



# **Solutions de lutte contre les nématodes au Sénégal**

## **Rapport de mission au Sénégal du 26 janvier au 6 février 2014**

**Christian Chabrier**



## Table des matières

1. En guise d'introduction : généralités sur les nématodes ; pourquoi posent ils un problème particulier au Sénégal ? .....	4
2. Déroulement de la mission .....	6
3. Principales personnes rencontrées .....	6
4. Analyse de la situation : cas de la SCL (Société de Cultures Légumières) .....	7
4.1 Analyse par culture .....	7
4.1.1 Maïs doux .....	7
4.1.2 Cucurbitacées (butternut et courgettes) .....	9
4.1.3 Solanacées (tomate / piment) .....	11
4.1.4 Patate douce .....	11
4.1.5 Haricots verts .....	11
4.2 Plan d'action .....	11
4.3 Conclusion .....	13
5. Cas de la SOCAS (Société de conserves alimentaires du Sénégal) .....	13
5.1 Attaques de nématodes observées .....	14
5.2 Méthodes alternatives .....	15
5.3 Plan d'action .....	15
5.3 Conclusion .....	16
6. Cas de WAF (West African Farm) .....	16
6.1 Attaques de nématodes observées .....	16
6.2 Analyses nématologiques .....	17
6.3 Plan d'action .....	17
6.3.1 Prophylactiques : .....	17
6.3.2 Monitoring .....	18
6.3.3 En cas d'introduction .....	18
6.4 Conclusion .....	19
7. Cas de la GDS (Grands Domaines du Sénégal) .....	19
7.1 Analyse du système de culture .....	19
7.2 Méthodes alternatives envisageables .....	19
7.2.1 Suppression de l'inoculum initial .....	19
7.2.2 Prévention de la dissémination .....	21
7.2.3 Plan d'action .....	21
7.3 Conclusion .....	22

8. Cas de la CSS (Compagnie Sucrière Sénégalaise) .....	22
8.1 Situation de la canne à sucre.....	22
8.2 Méthodes alternatives envisageable .....	23
8.3 Plan d'action.....	24
8.4 Conclusion .....	24
9. Des laboratoires à organiser et à fédérer .....	25
Références bibliographiques.....	26

## **1. En guise d'introduction : généralités sur les nématodes ; pourquoi posent ils un problème particulier au Sénégal ?**

Les nématodes constituent un embranchement de vers ronds. Ils occupent dans la nature des niches écologiques très variés ; certains sont détritiphages, d'autres bactériophages ou mycophages ; d'autres encore sont prédateurs (en particulier d'autres nématodes !), voire omnivores. D'autres enfin sont phytophages, et dans certains cas, entraînent des dégâts considérables pouvant aller jusqu'à rendre impossible une culture dans un milieu donné. Par exemple, *Radopholus similis* a détruit l'industrie du poivrier sur l'île de Banka en Indonésie dans les années 1930 (Ferraz et Brown, 2002) et limite l'aire de culture des théiers au Sri Lanka.

Si on peut rencontrer des nématodes à l'air libre, la plupart des nématodes terrestres vivent soit dans le sol, soit, pour les endoparasites à l'intérieur de leur hôte, que ce dernier soit un animal ou un végétal.

Dans le sol, les nématodes se déplacent en rampant dans un film d'eau (Wallace, 1959 ; Baldwin et Perry, 2004). Ils ne consomment pas de sol, comme les lombrics, et se déplacent dans les interstices en s'appuyant sur les particules de sol. Ils ont ainsi besoin de pores d'un diamètre compris entre leur largeur et la moitié de leur longueur. Soit, pour la majorité des espèces phytoparasites, de 15-20 µm à 300-400 µm. Une telle gamme de porosité est particulièrement bien représentée dans les sols sableux dans laquelle sont implantés les grands périmètres maraîchers de la région de Diama. A l'inverse, un vertisol qui possède une forte macro et microporosité mais une faible mésoporosité ne permettra pas (ou la permettra peu) la dissémination active d'un nématode de la taille d'un *Meloidogyne* ou d'un *Pratylenchus*.

Les sols sableux qui dominent dans le Nord du Sénégal constituent ainsi un milieu de vie physiquement favorable à la présence et à la dissémination des nématodes dans le sol. Ces derniers constituent ainsi une menace, voir dans certains cas, le facteur limitant pour certaines cultures sensibles quand les systèmes de culture pratiqués ont mal pris en compte leur potentiel de dégâts.

Les méthodes de lutte reposent encore sur la lutte chimique. Celle-ci posent cependant de très sérieux problèmes : de sécurité à la fois pour les applicateurs (risque d'intoxication au contact des nématicides), les consommateurs (risque de résidus) et l'environnement (empoisonnement du milieu, destruction d'organismes non cibles dont des auxiliaires...) ; de perte d'efficacité (suite à la sélection d'individus tolérants ou à la sélection d'organisme capable de dégrader rapidement la matière active dans le sol), des coûts directs et indirects...

Dans les sols sableux sénégalais, les nématodes sont très diversifiés et présentent des modes de vie très variés. Outre les parasites de plantes, on trouve des détritiphages, des bactériophages, fongivores, mais aussi des prédateurs (comme les *Mononchus*, prédateurs d'autres nématodes) et des omnivores (Villenave et Duponnois, 2002, Villenave et al., 2003). Les interactions entre ces différents groupes sont complexes ; l'augmentation de la richesse peut cependant améliorer la résilience du milieu et contribuer à limiter la pullulation d'un parasite donné. En détruisant cette biodiversité utile, un

traitement nématicide peut ainsi présenter indirectement des effets à terme opposés à ce pourquoi il a été appliqué (Lavelle et al., 2004).

Pour limiter le nombre de traitements, une meilleure connaissance des nématodes et de leurs niveaux d'infestation est nécessaire. Ce qui implique de disposer d'un laboratoire ad hoc pour extraire et dénombrer les nématodes du sol avant chaque plantation. Il faut aussi disposer des éléments nécessaires pour évaluer les seuils d'intervention à partir duquel des applications de nématicides sont nécessaires. Ces seuils dépendront de la pathogénie de l'espèce, ce qui implique aussi d'évaluer cette dernière et de connaître les traits de vie (capacités de survie, mode de reproduction, de dissémination...) des principales espèces pathogènes. Lorsque ces connaissances sont suffisantes, il est parfois possible de combiner des méthodes alternatives qui permettent d'atteindre des rendements élevés sans pesticides.

Au Sénégal, les espèces présentes ont généralement adoptées des stratégies efficaces de survie pour passer la saison sèche. La plupart des espèces naturellement présentes sont ainsi capables d'entrer en quiescence ou en diapause (Wharton, 2004). Sous cette forme, ils sont susceptibles de survivre à la saison sèche voire de vivre plusieurs années (Cadet et al., 2003) ; cependant, des rotations culturales peuvent drastiquement modifier les équilibres au sein de la nématofaune et limiter les populations de telle ou telle espèce ou pathotype (Beaujard et al., 1995 ; Cadet et al., 2003). Cela est vrai pour les *Meloidogyne* (Diop et al., 2000) mais plus difficile pour les espèces endoparasites migratrices (Beaujard et Martiny, 1995).

Les modes de reproduction sont très variés ; certaines espèces de *Pratylenchus* se reproduisent ainsi surtout par parthénogénèse vraie (comme *P. zaei*), alors que chez d'autres espèces (comme *P. coffeae*) la reproduction sexuée avec sexes séparés est de règle ; d'autres enfin sont hermaphrodites syngoniques (qui s'autofécondent). Ces connaissances sont nécessaires lorsqu'on choisit d'utiliser durablement des variétés résistantes. Les taux de multiplications sont très variables, les dynamiques de reproduction *r/K* également rencontrées ; ces caractéristiques doivent être prises en compte pour optimiser les stratégies de contrôle.

Les nématodes peuvent se disséminer à petite échelle de façon active ; ce mode de dissémination est cependant lent : les nématodes ne peuvent se déplacer que de quelques mètres par an (Prot, 1980) le record étant de 15 m/an. A plus grande échelle, la dissémination se fait de façon passive :

- par le vent qui entraîne des particules de poussières incluant des nématodes en vie ralentie (Beaujard, 1996 ; Baujard et Martiny, 1994)
- par les eaux qui ruissellent à la surface du sol (Cadet et al., 2002) ;
- par les eaux d'irrigation (Faulkner et Bolander, 1970) ; pour éviter la contamination des parcelles irriguées, il est préférable de pomper l'eau près de la surface car les nématodes ayant une densité comprise entre 1,08 et 1,13 (Viglierchio et Yamashita, 1983), ils tombent au fond de l'eau ;
- l'homme, en emportant des particules de terre sous ses chaussures ou sous les roues des engins, et surtout, pour les plantes à multiplication végétative, en transportant du matériel végétal (bulbes et tubercules infectés...).

## 2. Déroulement de la mission

La mission a été réalisée entre les 22 janvier et 7 février 2014 selon le programme suivant :

jeudi 23 janvier	Avion Fort de France-Paris	
Dimanche 26 janvier		Avion Paris - Dakar
Lundi 27 janvier	Transfert Dakar - St Louis	Visite des parcelles de maïs et de butternut de la SCS
Mardi 28 janvier	Visite de champs SCL (suite)	
Mercredi 29 janvier	Visite des serres de la GDS	
Jeudi 30 janvier	Visite des champs de la West African Farm	
Vendredi 31 janvier	Visite des plantations de la CSS	
Samedi 1 février	Visite des plantations de la CSS (suite)	Retour St Louis
Dimanche 2 février		
Lundi 3 février	Visite des champs de la SOCAS	
Mardi 4 février	Visite parcelles de patate douce SCL et de périmètres en cours de défrichage	Visite des essais
Mercredi 5 février	Réunion de restitution avec les représentants SCL, GDS, Socas et CSS	Transfert St Louis - Dakar
Jeudi 6 février	Voyage Dakar-Paris	
Vendredi 7 février		Voyage Paris – Fort de France

## 3. Principales personnes rencontrées

Nom	Prénom	Entreprise	Fonction	Mail
LAURENT	Michaël	SCL	Directeur Général	scl@orange.sn
EI AQUAQUI	Abdellah	SCL	Directeur Technique	scl.dprod@gmail.com
BROSSEAU	Patrice	SCL	Dir. Technique adjoint	scl.dirprod@gmail.com
DESPREZ	Mathilde	SCL	Responsable agronomie	scl.agronomie@gmail.com
HANNECART	François	GDS	Directeur Technique	f.hannecart@gds.sn
BERDJI	Khalid	GDS	Dir. Technique adjoint	k.berdij@gds.sn
DIOP	Alioune	GDS	Technicien laboratoire nématologie	
BELCHER	Richard	West African Farms	Directeur	w.africafarms@yahoo.com
SAMB	Mounirou	West African Farms	Coordinateur de Projet	w.africafarms@yahoo.com
AHONDOKPE	Benoît	CSS	Responsable agronomie	benoit.ahondokpe@css.sn
NTAB	Urbain	CSS	ingénieur service agronomie	urbain.ntab@css.sn
NDONG	Abdou	CSS	Superviseur laboratoires	
SARR	Boubacar	CSS	Technicien laboratoire nématologie	
WALTER	Georges	CSS	Directeur des plantations	georges.walter@css.sn
FROUIN	Jean	SOCAS	Directeur Technique	socasslo@orange.sn

## 4. Analyse de la situation : cas de la SCL (Société de Cultures Légumières)

La SCL produit des cultures diversifiées : maïs doux, butternut, piments, patate douce... L'essentiel des sols disponibles sont sableux avec des taux de matière organique très bas. De tels sols procurent un milieu de vie favorable aux nématodes en général et se prêtent bien à leur dissémination. Quelques parcelles ont cependant des teneurs en argiles plus élevées. Ces dernières parcelles ont souvent meilleures venues, et sont considérées comme plus défavorables aux nématodes. Ainsi, la faible mésoporosité des vertisols rend très difficile la dissémination active des *Pratylenchus* et *Meloidogyne*.

### 4.1 Analyse par culture

#### 4.1.1 Maïs doux

Au Sénégal, plusieurs espèces de nématodes présentes au Sénégal sont susceptibles de s'attaquer au maïs. Selon les données bibliographiques, les principales appartiennent aux genres :

1- *Pratylenchus* (Norton, 1983 ; Donald et Nicol, 2005). En particulier, *Pratylenchus brachyurius*, *P. zae* et *P. sefaensis* (Netscher, 1966 ; Fortuner, 1973 ; Reversat et Germany, 1985) ont tous trois été observés sur maïs au Sénégal.

2- *Meloidogyne*; les deux espèces les plus fréquemment rencontrées au Sénégal, *M. javanica* et *M. incognita*, sont susceptibles de commettre des dégâts (Mc Donald et Nicol, 2005), même si toutes les souches ne sont pas pathogènes. Trivedi et Barker (1986) estiment d'ailleurs que le maïs pourrait être utilisé comme plante de rotation pour limiter les populations de certains *Meloidogyne spp.* qui s'attaquent aux solanacées maraichères.

3- Le maïs est également hôte potentiel de plusieurs espèces d'*Helicotylenchus*, comme *H. dihystra*, *H. digonicus* ou *H. pseudorobustus* (de Waele et Jourdan, 1988) ; toutefois, les dégâts de ce genre de ces nématodes sont normalement d'importance limitée (Donald et Nicol, 2005).

4- Par contre, *Heterodera zae* ne semble pas avoir été observé au Sénégal. Ce point est cependant à vérifier, la majorité de la bibliographie disponible concernant des études réalisées plus au sud.

De même, nous n'avons pas trouvé de données bibliographiques concernant d'éventuels dégâts de *Ditylenchus sp.* sur maïs au Sénégal. Il n'est cependant pas exclu qu'une partie des fontes de semis soient favorisées voire provoquées par ce dernier nématode, notamment pendant la période fraîche. Des analyses nématologiques sont nécessaires pour lever un doute.

Lors des visites de terrain, **des brunissements et nécroses racinaires font très fortement penser à des dégâts de *Pratylenchus***. Il faudrait cependant extraire les nématodes de ces racines pour être affirmatif. D'une part, le niveau de dégâts susceptibles d'être attribué aux nématodes est difficile à évaluer en l'absence de dénombrements et d'essais comparatifs. D'autre part, d'autres pathogènes peuvent entraîner des nécroses racinaires et des croissances retardées ou ralenties.

Pour l'instant, la lutte est essentiellement chimique et préventive ; du Telone® (dichloropropène) est appliqué à la dose de 160 l/ ha. A cette dose, sur sol humide et correctement roulée, les populations de *Pratylenchus* et de *Meloidogyne* sont normalement suffisamment diminuées pour les deux à trois

mois (environ) que nécessite un cycle de culture. Cependant, cette méthode de lutte pose des problèmes :

- de sécurité pour les utilisateurs, le dichloropropène est un produit toxique en soi. Il est d'ailleurs interdit d'usage en France depuis novembre 1993 ;
- de sécurité pour l'environnement, le dichloropropène agissant sur de nombreux organismes du sol, nuisibles ou non ; il peut ainsi diminuer drastiquement les populations d'organismes antagonistes des parasites visés : prédateurs de nématodes, compétiteurs, mycorhizes...
- il détériore sérieusement les populations d'ingénieurs du sol (fourmis, termites, lombrics) d'une part, les organismes antagonistes des parasites de plantes d'autre part. Or les ingénieurs du sol doivent absolument être favorisés vu les problèmes de tassement de sol observés notamment sur les parcelles C6 et E7 ;
- de pollution du milieu, même si le dichloropropène est considéré comme peu persistant dans les sols (demi-vie dans le sol estimée à environ 10 jours) ;
- de coût, le produit lui-même, les outils d'application (couteur-injecteurs), l'immobilisation des tracteurs générant des dépenses ;
- à terme, de disponibilité, le dichloropropène ayant été retiré en Europe (décision 2007/619/CE) et subissant des restrictions d'usages sur les autres territoires.

Méthodes de lutte alternative :

- la lutte génétique paraît difficile à mettre en œuvre vu le modèle économique de la SCL selon lequel le client impose les variétés à cultiver. Il n'est cependant pas inutile de connaître la sensibilité des différentes variétés de maïs aux *Pratylenchus* locaux pour affiner les seuils de nuisibilité ;
- adapter les pratiques culturales : les nématodes peuvent être disséminés par le vent, les eaux de ruissellement, l'homme grâce aux outils et machines en contact avec le sol et enfin, activement en rampant dans le sol ou à sa surface. Suivant les populations initiales dans le sol de *Pratylenchus* (et *Ditylenchus* ?), il faudra ou non mettre en œuvre des mesures prophylactiques : fossés pour prévenir les contaminations par les eaux<sup>1</sup>, brises-vents contre la dissémination par le vent, nettoyage soigneux des outils aratoires entre chaque parcelles. La contamination active étant lente ne s'effectue que sur quelques mètres en 3 mois ;
- adapter les itinéraires techniques : en développant des rotations adaptées. Plusieurs espèces de plantes assainissantes peuvent être évaluées, en particulier les Crotalaires dont certaines sont naturellement présentes au Sénégal. Des essais de rotations avec *Crotalaria juncea* et *Crotalaria spectabilis* (entre autres espèces) sont à envisager ;
- des carences peuvent ralentir la croissance de la plante et limiter ses capacités de défense et de régénération. De même un sol trop tassé, en limitant la croissance des racines, augmentera la sévérité des dégâts en limitant la capacité de la plante à émettre des racines de remplacement ;
- à contrario, les variétés de maïs les plus mauvaises hôtes de *Meloidogyne* pourraient être utilisées comme tête de rotation avec les variétés les plus sensibles de solanacées et cucurbitacées.

---

<sup>1</sup> Notons qu'à ce propos, le risque de contamination par les eaux d'irrigation est faible car les crépines de la station de pompage sont flottantes. Il paraît nécessaire de garder cette configuration pour limiter le risque de contamination par des nématodes qui seraient charriés par les eaux du fleuve.



#### 4.1.2 Cucurbitacées (butternut et courgettes)

Les principales espèces de *Meloidogyne* rencontrées au Sénégal, *M. incognita* / *M. enterolobii*, *M. javanica* et *M. arenaria* (Netscher, 1970, Diop, 1998) sont toutes susceptibles de commettre de gros



Figure 1 : Dégâts (galles) de *Meloidogyne* sur butternut. SCL, Diama.

dégâts sur la plupart des cucurbitacées. Si les courgettes présentent des niveaux de sensibilité variables, il semble que l'ensemble des variétés de butternut cultivées soient sensibles. Lors des visites de terrain, des dégâts parfois très impressionnants ont été observés sur les différentes variétés (Figure 1). Ces dégâts réduisent considérablement la productivité de la plante à produire et nécessitent la mise en œuvre de méthode(s) de lutte.

En l'absence de comptage de nématodes, il est difficile de classer la sensibilité des variétés ; les galles dépendent de la réaction de la plante à l'attaque du pathogène et les mesures d'indices de galles doivent être complétées par des comptages

de juvéniles dans le sol lors du semis et en fin de culture. Ce qui nécessite la présence d'un laboratoire. Tout au plus peut-on noter qu'en l'absence de méthode de lutte, la production est sérieusement diminuée, voire totalement anéantie).

Méthodes de lutte alternative :

- la lutte génétique paraît difficile à mettre en œuvre vu le modèle économique de la SCL selon lequel le client impose les variétés à cultiver. C'est particulièrement le cas pour les butternuts. Il paraît cependant utile de connaître les taux de multiplication des *Meloidogyne* sur les différentes variétés (voir partie 4.2 Plan d'action).
- adapter les pratiques culturales : de nombreux arbres étant hôtes de *Meloidogyne* (Taylor et al., 1978 ; Netscher, 1981 ; Cadet et Sanogo, 2007), comme d'ailleurs de très nombreuses adventices, les espèces sensibles ne devraient pas être cultivées sur des terrains nouvellement défrichés. Les cultures maraîchères doivent être précédées de cultures non- ou mauvais hôtes comme l'arachide (Netscher, 1974) ou mieux, avec des plantes assainissantes comme les *Tagetes* (*T. patula* et *T. erecta*), *Crotalaria* (*C. juncea*, *C. spectabilis*...) surtout les *Mucuna* (*M. deeringiana* en particulier) (Krueger et al., 2007 ; Hooks et al., 2010 ; Lima et al., 2009 ; Rodríguez-Kábana et al. 1992, Zasada et al, 2006). Cependant, les résultats obtenus avec ces plantes sont variables, en fonction des pathotypes de *Meloidogyne* présents localement d'une part (Piedra Buena et al., 2008), des variétés de plantes à effets nématicides d'autre part (Ploeg et Maris, 1999); mais aussi en fonction de la teneur en matière organique des sols et de la présence d'autres organismes comme les champignons antagonistes de nématodes (Wang et al., 2004). Des essais avec les souches locales de *Meloidogyne* sont indispensables pour évaluer l'effet sur les populations de nématodes dans le sol.
- Outre les rotations, l'utilisation de matière organique peut contribuer à améliorer la tolérance des plantes aux *Meloidogyne* et améliorer les rendements. L'effet peut être direct sur la plante ; effet d'autant plus marqué que sur les sols de la SCL les teneurs en matière

organique sont généralement basses voir très basses. Mais il peut aussi être indirect car un apport matière organique peut modifier la microflore et la mésofaune et favoriser le développement de divers antagonistes des *Meloidogyne* (Wang et al., 2004).

- En dernier recours, on peut encore utiliser les nématicides. Les fumigants encore utilisables posent cependant de gros problèmes (voir plus haut dans la partie « maïs ») et risquent de ne plus être disponibles ou du moins, d'être limités par les cahiers des charges et normes imposés par les acheteurs de la Grande Distribution (Globalgap par exemple). Les organophosphorés (fosthiazate, cadusafos, terbufos...) et carbamates (oxamyl) posent eux aussi des problèmes 1- de résidus, surtout sur cucurbitacées, 2- de contamination de l'environnement, 3- des effets sur les organismes non cibles (même si ils sont moindres que les fumigants en particulier sur les populations bactériennes et fongiques du sol).
- Il serait donc souhaitable de leur substituer des bionématicides, qui sont généralement moins toxiques. Cependant, ces produits posent des contraintes supplémentaires liées aux risques logistique (ils sont souvent plus labiles que les pesticides chimiques) et, pour ceux qui contiennent des organismes vivants, écologiques (risque d'introduction d'un organisme envahissant). Certaines peuvent donner de bons résultats contre les *Meloidogyne*, comme le BioAct®, préparation à base de *Paecilomyces lilacinus* (Anastasiadis, 2008) ; il existe de nombreuses publications exposant de bons résultats à l'issue d'études sur sols stérilisés et avec des inoculations contrôlées du parasite visé (par exemple, Khan et al., 2006 ; Kiewnick et Sikora, 2006). Ces mêmes produits donnent cependant des résultats souvent décevants au champ, les interactions avec la microflore naturellement présente pouvant gêner, voir annihiler l'action de l'agent microbiologique utilisé. De plus, ces produits fonctionnent souvent mal lorsque les infestations sont fortes (Figure 2)



**Figure 2:** Vue d'un essai BioAct® réalisé dans une bananeraie fortement infestés par des nématodes (plus de 10000 *Radopholus* + *Pratylenchus* / 100 g de racines) ; au premier plan, la parcelle traitée BioAct® à 2 g/plants est détruite alors qu'au second plan, la parcelle de référence (alternance fosthiazate et cadusafos) est restée productive.

Dans ce cadre, un essai a été mis en place à la SCL avec 4 produits composés de substances d'origine naturelles (*Nematon EC*®, *Phyto-Protect EC*®, *Tapis vers*®, *Agritrap-Terra*®). Ces essais sont

malheureusement à refaire entièrement. En effet, suite à un traitement malencontreux (mélange d'insecticide et de sulfate de zinc) des dégâts sévères de phytotoxicité sont apparus. Ces dégâts sont très hétérogènes. Les parcelles témoins et de références étant bien moins touchés, l'effet "phytotoxicité" ne peut être confondu avec l'effet "bloc" et l'essai ne peut être exploité.

#### **4.1.3 Solanacées (tomate / piment)**

Les problèmes posés sur solanacées sont assez similaires à ceux posés sur cucurbitacées. Toutefois, les cucurbitacées sont, selon la base Ephytia de l'INRA, plus tolérants aux *Pratylenchus* que les solanacées. Nous n'avons cependant guère observés de dégâts sur tomates et sur piments qui puissent faire penser à des attaques de *Pratylenchus*.

Les méthodes de lutte alternatives mobilisables sont les mêmes que celles mobilisables contre les cucurbitacées. A une nuance près : le pouvoir pathogène d'un pathotype donné n'est pas nécessairement le même d'une famille à l'autre. Il n'est d'ailleurs pas nécessairement le même entre tomate et piment, les gènes de résistance aux *Meloidogyne* n'étant pas commun aux deux espèces.

#### **4.1.4 Patate douce**

La patate douce, comme nombre de plantes à tubercules amylacées, est considérée comme hôtes de plusieurs espèces de *Pratylenchus*, en particulier *P. brachyurus*, *P. coffeae* et *P. goodeyi* (Scurrah et al., 2005). La patate douce peut aussi être attaquée par *Scutellonema cavenesi* et par *Meloidogyne* spp. Lors des visites de terrain, nous n'avons cependant pas observé de symptômes attribuables aux nématodes.

Dans le cas de la patate douce, de nombreuses variétés sont tolérantes, même si certaines variétés ne sont tolérantes qu'à certaines espèces et sensibles à d'autres (Huat, 1999). Il serait donc souhaitable de connaître la tolérance des deux principales espèces cultivées à la SCL aux *Meloidogyne* et aux différentes espèces de *Pratylenchus*. Cela est d'autant plus important que les nématicides incorporés dans le sol présentent plus de risques de résidus dans les tubercules que dans les légumes fruits.

#### **4.1.5 Haricots verts**

Au Sénégal, les haricots verts sont susceptibles d'être attaqués essentiellement par les *Meloidogyne* (Netscher, 1966). Certaines espèces de *Pratylenchus* peuvent attaquer le haricot vert, mais cette légumineuse est considérée comme non hôte de *Pratylenchus zeae* (Aung et Prot, 1990).

Les méthodes de lutte alternatives mobilisables sont les mêmes que celles mobilisables contre les solanacées. Le plan d'action proposé sera ainsi commun.

### **4.2 Plan d'action**

Compte tenu de ces éléments, il semble nécessaire de mener une campagne d'analyses nématologiques systématiques, au semis et à la récolte de chaque parcelle principale. Et ce, pour toutes les cultures. Pour cela, un échantillon composite de sol doit être composé à partir d'au moins 20 prélèvements à la tarière sur 0-20 cm de profondeur. Les nématodes devront alors être extraits soit par centrifugation flottation (Coolen et d'Herde, 1972), soit à l'aide d'un élu triateur (Seinhorst, 1962).

Pour le maïs, en cas de fonte de semis importante, des échantillons de plantules seront prélevés pour extraire les nématodes des jeunes racines par Baermann (Whitehead et Hemming, 1965). Sur maïs, ces analyses permettront de vérifier la présence/absence de *Ditylenchus* et contribueront à l'évaluation de la sévérité des dégâts précoces de *Pratylenchus*.

Pour les, cucurbitacées, solanacées et haricots, il est très souhaitable d'évaluer la sensibilité des différentes variétés aux *Meloidogyne* spp. Le plus simple serait d'utiliser les essais de comportement variétaux. Trois informations sont recherchées :

- évolution de la population de *Meloidogyne* dans le sol : pour cela, il faut prélever un échantillon de sol dans chaque parcelle au semis, à 45 jours et à la récolte. Les nématodes seront extraits par élutration (ou mieux, par la méthode de Demeure et Netscher, 1973 même si celle-ci est assez lourde).
- évaluation des populations dans les racines à la récolte, à partir d'un échantillon de racines (aliquote de 50 g de racines) ; je suggère fortement d'extraire les nématodes dans une chambre à brouillard de Seinhorst (Hooper et al., 2005), cette méthode étant particulièrement bien adaptée aux *Meloidogyne* et à l'évaluation de leur potentiel inoculum.
- notation des dégâts en utilisant l'échelle des indices de Zeck (1971).

Des essais similaires devraient aussi être réalisés sur maïs ; certaines variétés pourraient en effet être assez mauvais hôtes pour diminuer l'inoculum du sol et servir de précédent cultural aux cultures sensibles (Netscher, 1970).

Il en va de même avec la patate douce. Une évaluation de la tolérance voir résistance des variétés cultivées aux souches locales de *Meloidogyne* doit être évaluées. Pour cela, l'acquisition de jeux de données comportant les populations de nématodes à la plantation dans le sol, dans le sol et à dans les racines à la récolte (+ poids des racines) mériterait d'être réalisée. A partir de là, il sera peut être possible de concevoir des systèmes de rotation incluant le maïs et/puis/ou la patate douce contre les *Meloidogyne*.

Dans le cadre de cette dernière étude, il faudra déterminer les *Pratylenchus* au niveau de l'espèce et les dénombrer espèces par espèces. Il y a en effet des chances pour que les espèces de *Pratylenchus* pathogènes sur patate douce ne soient pas les mêmes que celles qui attaquent le maïs. Si tel est le cas, des rotations adaptées pourraient permettre de limiter les populations de chacun des deux nématodes voire de contrôler au moins l'une d'elle.

Sur les cultures légumières, notamment les solanacées, il paraît souhaitable d'évaluer le comportement des variétés cultivées face aux *Pratylenchus* espèce par espèce ; là encore pour concevoir des rotations adaptées contre ce genre de nématode. Pour cela, on pourra utiliser les jeux de données acquis lors de la campagne d'analyses nématologiques systématiques et lors des essais destinés à l'évaluation de la sensibilité aux *Meloidogyne*. Il faudra donc que le technicien chargé des analyses note les populations de chaque nématode observé lors des analyses nématologique, et pas seulement ceux contre lequel le prélèvement était fléché.

L'effet des matières organiques locales sur les populations de nématodes en place devrait être envisagé pour améliorer la fertilité des sols, tant physico-chimique que sur le plan microbiologique. De nombreux organismes sont d'une part susceptibles de défavoriser la croissance des populations de nématodes (Duponnois et al., 1998) ; d'autre part, un meilleur développement des populations

microbiennes entrainera le développement des communautés de la mésofaune, et ainsi, des populations de prédateurs de nématodes.

Dans le même esprit, il pourrait être envisagé d'étudier des sélections d'antagonistes comme le BioAct® ; cependant, les biopesticides seront à priori plus facile à mettre en œuvre. Sur cucurbitacées comme sur solanacées, les essais biopesticides devraient donc être remis en place conformément au protocole déjà établi. Nous suggérons de reproduire ces essais sur solanacées (piments et tomates) dans la mesure du possible.

Nous avons enfin noté que dans de jeunes parcelles, des ilots circulaires de faible fertilité apparaissent fréquemment lors des premiers cycles après défrichage. Il est possible que ces cercles correspondent :

- liés à la présence d'arbres qui seraient hôtes de nématodes<sup>2</sup> ; après leur arrachage, ces arbres pourraient laisser un stock de pathogènes derrière eux ;
- à l'emplacement des feux de destruction du couvert végétal précédent.
- Il n'est cependant pas certain que les nématodes soient responsables, d'autres causes, notamment chimiques (phytotoxicité d'exsudats racinaires d'arbres ou de substances libérées par le feu) pouvant être incriminées.

Pour mieux comprendre l'origine de ces ilots, nous avons convenu avec Mme Desprez de :

- relever les coordonnées GPS des arbres et feus
- prélever des échantillons de sol pour analyses nématologiques en début de culture à l'emplacement du tronc des arbres et au cœur des foyers d'une part, dans des zones découvertes et non brûlés d'autre part.

### **4.3 Conclusion**

Les nématodes posent un réel problème à la SCL, particulièrement les nématodes à galles. Les *Pratylenchus* font également peser une menace, spécialement sur maïs. Pour mettre en œuvre des méthodes de lutte raisonnée, pour réduire l'utilisation de dichloropropène ou pour mieux prévenir les dégâts, un laboratoire d'analyse est indispensable. Une salle est d'ailleurs en cours d'équipement à la SCL. Un premier stéréomicroscope a été acheté ; cet appareil permet de réaliser des comptages en routine par un technicien formé, mais pas de faire d'observer et de déterminer à l'échelle de l'espèce.

Ce dernier type de travail n'a pas nécessairement vocation à être réalisé à la SCL même. Un laboratoire commun aux autres structures pourrait répondre aux besoins ponctuels.

## **5. Cas de la SOCAS (Société de conserves alimentaires du Sénégal)**

La SOCAS est un groupe industriel qui produit et transforme de la tomate (conserves pour le marché local et séchée pour l'export) et du haricot vert (essentiellement pour l'export). La production de tomate est en grande partie assurée par des agriculteurs ; la SOCAS gère néanmoins en directe une

---

<sup>2</sup> Plusieurs études menées précédemment au Sénégal (par exemple, Taylor et al., 1978 ; Netscher, 1981 ; Duponnois et al., 1997) ont montré que de nombreuses espèces d'arbres sont hôtes de nématodes (en particulier de Meloidogyne) et peuvent modifier les équilibres au sein de la nématofaune (Cadet et Sanogo, 2007).



exploitation agricole pour compléter la production de haricots et de tomate. Cette exploitation permet surtout à la SOCAS de réaliser des expérimentations et d'appuyer ainsi ses agriculteurs.

Les conditions de sols et de climat sont globalement similaires à ceux rencontrés à la SCL. Le système de production pratiqué est assez proche. Toutefois, les sols m'ont paru un peu moins tassés.

Les labours sont réalisés essentiellement au mois d'août, quand les sols sont humides car alors le sol est plus facile à travailler et permet d'utiliser du matériel moins lourd. Un tracteur de 110 cv est alors suffisant pour tirer une charrue à 3 socs. Le labour est précédé de passage de cover-crop pour broyer les résidus de la culture précédente.

Les parcelles à planter en haricot vert sont traitées au Telone® en septembre après passage d'un pulvérisateur à disque et plantées en octobre, lorsque le sol est chaud et humide. Un herbicide (pendimethaline) est appliqué dans les heures suivant le semis.

La tomate est, elle, plantée mi-octobre après billonnage (pour faciliter l'apport d'engrais) et récoltée après environ 120 jours de culture. La récolte est groupée, les fruits étant destinés à la transformation.

### 5.1 Attaques de nématodes observées

Selon M. Frouin, les nématodes poseraient le principal problème phytosanitaire. Nous avons observé des dégâts sévères répartis en taches dans les parcelles visitées, non seulement de tomate mais aussi de haricot (Figure 3 et Figure 4).



Figure 4 : dégât de *Meloidogyne* spp. dans une parcelle de haricot Tamya ; SOCAS.



Figure 3 : galles de *Meloidogyne* spp. sur haricot Tamya.

Nous avons également visité une parcelle d'oignons récemment plantés. Bien que ces parcelles aient été traitées au Mocap® 5G, des feuilles raccourcies, des déformations et nécroses du collet ont été observées sur les plantules. Ces dégâts, localement très sévères, ressemblent très fortement à ceux que provoque *Ditylenchus dipsaci* (Sikora et Fernandez, 2005). Ceci peut paraître étonnant, les températures favorables à ce nématode étant plutôt basses (15 à 20°C) ; lors de notre passage, le sol était cependant froid, dans cette gamme de température, et très humide.

Enfin, l'oignon peut être attaqué par d'autres nématodes comme *Belonolaimus longicaudatus*, *Paratrichodorus* spp. et certains pathovars de *Meloidogyne* spp. (même si les *Allium* sont généralement considérés comme mauvais hôte des *Meloidogyne* ; voir Diop, 1998).

## 5.2 Méthodes alternatives

Les situations de sol et de climat, l'état sanitaire des tomates et haricots font que la situation est assez proche de celle que nous avons rencontrée à la SCL.

- Utilisation de variétés tolérantes ou résistante.

La principale variété de haricot, Tanya, est aussi cultivée par la SCL. Cette variété est ainsi sensible à certaines souches de *Meloidogyne*. Tout comme la principale variété de tomate, Ami. Pour les haricots, compte tenu des cahiers des charges imposés par les importateurs, il peut paraître difficile de remplacer Tanya par une variété plus tolérante. Par contre, les tomates de la SOCAS étant transformées, nous suggérons d'utiliser une variété tolérante. Les gènes de résistance, et en particulier le gène Mi, sont cependant susceptibles de devenir sensibles lorsque la température est plus élevée (Tzortzakakis et Gowen, 1996). Il est donc nécessaire d'évaluer au champ (ou au laboratoire, mais dans des conditions de température de sol représentatives de celles relevées au champ en octobre) avant de recommander une variété tenue pour « résistante ». De plus, certaines variétés peuvent n'être résistantes qu'à une partie des pathovars présents (Berthou et al., 1989).

- Rotations culturales : bien que l'éventail des cultures actuellement pratiquées soit plus étroit à la SOCAS qu'à SCL, la rotation culturale avec des plantes à effet nématocide contre *Meloidogyne* spp. paraît un plus facile à mettre en œuvre car les récoltes de la tomate et des haricots sont groupées. Les plantes à tester sont, comme à la SCL : *Tagetes* spp., *Crotalaria* spp., *Mucuna* spp. Ou plutôt avec la SCL, le problème étant largement commun, les conditions pédo-climatiques peu différentes.

- De même, l'utilisation d'apports de matière organique est susceptible de limiter les dégâts de *Meloidogyne*.

- Le fumigant encore utilisés sur tomate (Telone® 170 l/ha) devrait être évité et remplacé dès que possible par des produits moins polluants et moins toxiques. Un essai doit être mis en place dans des serres à planter avec des haricots.

## 5.3 Plan d'action

Comme à la SCL, une campagne d'analyse nématologique est indispensable. Nous suggérons le même mode opératoire (voir page 11). De même, nous suggérons d'évaluer la sensibilité de nouvelles variétés aux souches locales de *Meloidogyne* et de comparer cette sensibilité à celle des variétés actuellement utilisées.

Des essais de plantes de rotation efficace contre les *Meloidogyne* devraient être mis en œuvre pour sélectionner les variétés efficaces et adaptées de *Tagetes* spp., *Crotalaria* spp. ou *Mucuna* spp.

De plus, il serait souhaitable d'évaluer la capacité des différentes espèces d'arbres qui composent les haies aux *Meloidogyne*. Ceci, afin de privilégier des espèces non-hôte (ou faible hôte) pour éviter que les haies contribuent au maintien d'un niveau élevé d'inoculum.

Comme à la SCL, les essais de matière organique et d'antagonistes devraient être envisagés.

Enfin, un essai PIP est programmé sur haricot pour tester 4 produits à base de substances d'origine naturelles pour remplacer les nématocides actuellement utilisés. Cet essai, doit profiter aux autres structures qui font face à des situations similaires.

## 5.3 Conclusion

Les *Meloidogyne* posent un sérieux problème à la SOCAS. Pour développer les méthodes alternatives de lutte sur ses fermes, mais aussi pour appuyer ses agriculteurs sous contrats, il me paraît nécessaire que la SOCAS puisse disposer d'un laboratoire d'analyses nématologique. Ce laboratoire ne doit cependant pas nécessairement être rattaché directement à la SOCAS. Il peut être externe et analyser les échantillons de plusieurs structures.

## 6. Cas de WAF (West African Farm)

WAF est une société qui possède environ 300 ha à Yamane, au sud de Dagana, dont 180 sont exploités. Les cultures principales sont les oignons (240 ha) et accessoirement les radis (60 ha). La culture est irriguée par des pivots d'aspersion. L'eau est amenée par un canal relié au fleuve.

Les conditions de sols sont également proches de celles rencontrées à la SCL. Cependant, le développement du maraîchage industriel sur ces terres est très récent (2010-2013), la succession de culture maraîchère est moins susceptible d'avoir sélectionné une nématofaune associée aux plantes choisies.

### 6.1 Attaques de nématodes observées

Sur les parcelles d'oignons, des tâches plus ou moins circulaires comportent des plantules en retard de développement. Les plantules ont un développement racinaire moindre que dans les zones



Figure 5 : tache de faible croissance sur plantules d'oignons. WAF, Yamane.

« saines », le chevelu racinaire est faible et les radicelles semblent partiellement bloquées. Il n'y a cependant pas de déformation du collet ou de nécroses qui pourraient faire penser à des attaques de *Ditylenchus*.

Lors des premières mises en culture, des retards de croissance « en vague » sont également observés. Les plantules atteintes ne présentent cependant pas des signes évidents d'attaque de nématodes, nécroses racinaires attribuable à un *Pratylenchidé* et encore moins à *Ditylenchus* spp.

Il paraît plus probable que ces dégâts (fontes de semis, tâches de moindre croissance comme zone de levée hétérogène) soient consécutifs à un travail du sol mal adapté. Le travail du sol peut compromettre la levée et le développement des plantules en tassant le sol, et/ou, en faisant remonter des horizons peu productifs (sans matière organique, pauvres en élément fertilisant ou contenant un élément phytotoxique).

Sur radis, je n'ai pas rencontré de dégâts faisant penser à une attaque de nématode. Les brassicacées sont peu sensibles aux nématodes ; elles renferment en effet des glucosinolates, dont la dégradation par la myrosinase produit dans le sol des isothiocyanates, très toxiques pour les champignons et nématodes. Ces substances sont voisines de certains fumigants comme le metham-sodium (Zasada et Ferris, 2004 ; Szczygłowska et al., 2011). D'où le nom de bio-fumigation qui a été donné à l'enfouissement de résidus de brassicacées (Lazzeri et al., 2004). Cependant, des nématodes à cystes,



en particulier *Heterodera cruciferae* et *Heterodera schachtii* commettent des dégâts sérieux sur certaines crucifères. Le second est présent depuis longtemps au Sénégal (Luc et Netscher, 1974). *Ditylenchus dipsaci* peut s'attaquer à certaines espèces (colza et betterave en particulier).

Toutefois, nous n'avons pas observé à Yamane de dégâts attribuables ni aux nématodes à cystes ni à *Ditylenchus* spp.

## 6.2 Analyses nématologiques

Richard Belcher a fait réaliser des analyses nématologiques par un laboratoire britannique sur 22 parcelles. Des populations de, *Meloidogyne*, *Scutellonema* et *Pratylenchus* ont été détectées.

Les populations de *Meloidogyne* sont très basses ; seuls 5 échantillons en contiennent, le plus contaminé comportant 200 *Meloidogyne* par L de sol. 11 échantillons contiennent *Scutellonema* spp., avec des populations comprises entre 20 et 120 individus / L de sol. 13 échantillons contiennent des *Pratylenchus*, les populations s'éageant entre 20 et 80 individus / L de sol. Enfin, quelques *Hoplolaimus pararobustus*, *Telotylenchus* et *Aphasmatylenchus* (ce dernier s'attaque essentiellement aux légumineuses) ont été détectés, avec moins de 25 individus par L de sol. Aucun *Tylenchorynchus*, *Paratrichodorus* ou *Radopholus* n'a été trouvé.

Ces populations sont faibles et peu susceptibles de commettre des dégâts sur des oignons et sur des radis.

## 6.3 Plan d'action

La situation à la WAF est actuellement saine du point de vue nématologique. Elle peut cependant se détériorer, *Heterodera schachtii* et surtout *Ditylenchus dipsaci* étant présent au Sénégal. La dernière parcelle visitée avec M. Jean Frouin de la SOCAS montre qu'en période fraîche, ce dernier nématode peut être une sérieuse menace pour la culture de l'oignon dans cette région.

Deux mesures doivent donc être prises :

### 6.3.1 Prophylactiques :

Pour éviter l'introduction de nématodes, il convient de n'utiliser que du matériel de semis certifié. Si les graines ne posent à priori pas de problèmes, il faudra absolument éviter l'introduction de matériel végétatif (bulbes par exemple). Dans le cas où des boutures ou plants seraient introduits sur la ferme, il faudra réaliser une analyse nématologique préalable.

Une autre source de contamination anthropique possible est liée au transport par le matériel de culture. Morgan et al. (2002) ont ainsi montré que des nématodes pouvaient être disséminés grâce aux outils de travail du sol. Un nettoyage soigneux devra ainsi être préalablement réalisé à chaque fois que du matériel aratoire sera introduit sur le territoire de la ferme. De même, le personnel devra bien nettoyer les chaussures après avoir visité des parcelles potentiellement contaminées.

Les nématodes peuvent aussi se disséminer par les eaux, notamment d'irrigation. Cependant, étant plus denses que l'eau, ils ont tendance à tomber au fond des bassins de rétention et sont quasiment absent de la surface. Il faut donc veiller à ce que les crépines des stations de pompage soient flottantes et ne pompent pas l'eau du fond des bassins ou canaux.

Le risque de contamination par le vent semble faible, WAF n'étant pas à proximité immédiate d'une autre zone de production. Des brise-vents pourraient contribuer à limiter ce risque. Il faudra cependant vérifier la bonne qualité sanitaire des plants et motte introduites (absence de nématodes en pépinières).

### 6.3.2 Monitoring

Vérifier la qualité sanitaire des plants introduits implique qu'un laboratoire puisse réaliser les extractions et comptages de nématodes nécessaires. Il serait souhaitable que ce laboratoire soit présent à proximité pour diminuer le coût des analyses et limiter le délai nécessaire pour obtenir les résultats.

Des mesures régulières (en début et en fin de cycle de culture) permettront de vérifier l'absence de nématodes pathogènes. En cas d'introduction, elles permettront de prendre les mesures de lutte nécessaires.

### 6.3.3 En cas d'introduction

Un fumigant ou un nématicide à large spectre risque fort de n'éliminer qu'une fraction de la population introduite, et surtout de déséquilibrer la nématofaune du sol en détruisant les antagonistes (prédateur en particulier) qui y sont présent. Comme de plus les températures ne sont favorables à *Ditylenchus dipsaci* qu'une partie de l'année (*Ditylenchus dipsaci* pouvant entrer en anhydrobiose pendant la période défavorable), il paraît préférable de ne pas modifier cet équilibre pour que les antagonistes soient bien présents en période fraîche.

*Ditylenchus dipsaci* étant peu adapté aux températures chaude (Greco, 1993), je suggère de éliminer une large partie de la population par solarisation pendant 4 à 8 semaines. Contre *D. dipsaci*, 4 semaine de solarisation sont aussi efficace qu'une application de dichloropropène à 300 L / ha (Greco et al., 1985). Dès la fin de la récolte, le sol devrait alors être bien humidifié puis recouvert d'une bâche plastique pour 8 semaines. Dans les conditions climatiques habituellement rencontrées dans le nord du Sénégal en juin-juillet, la température de 45°C dans les 20 premiers cm de profondeur du sol devrait être atteinte sans trop de difficultés. Il faudra néanmoins le vérifier et allonger la durée de la solarisation si nécessaire.

Si l'espèce *D. dipsaci* peut attaquer au moins 450 espèces de plantes, chaque pathovar n'attaque qu'un nombre limité d'espèce. Il faudra alors mieux cerner le spectre d'hôte de l'espèce présente afin d'établir un système de rotation. Il est tout à fait possible que la souche soit par exemple avirulente sur radis ou sur tomate. Cependant, utilisée seule, cette méthode de lutte sera insuffisante car elle ne permettra la culture de l'oignon sur une parcelle infestée qu'une année sur 4. En pratique, la combinaison des deux méthodes (solarisation suivie d'une culture non hôte) pourra être réservée aux parcelles très fortement infestées.

Une alternative à tester en parallèle repose sur l'utilisation de plantes de service comme *Tagetes patula* pour contrôler *D. dipsaci* (Chitwood, 2002). L'utilisation de cette plante nématicide peut aussi être combinée avec la solarisation, la culture de *T. patula* précédant alors immédiatement la mise en œuvre de la solarisation.

Contre les *Heterodera* des brassicacées, les mêmes méthodes pourraient être utilisées. Avec cependant plus de facilité pour la mise en œuvre de rotations, le radis étant à WAF une culture secondaire face aux oignons.

## **6.4 Conclusion**

Si pour l'instant, les nématodes ne posent pas de problèmes à la WAF, un monitoring reste nécessaire pour mettre en œuvre des mesures alternatives aux pesticides dès le début d'une infestation. La parcelle d'oignons apparemment très infestée de M. Jean Frouin pourrait servir de parcelle d'essai afin d'adapter les techniques de solarisation ou de tester les plantes de rotation potentielles.

## **7. Cas de la GDS (Grands Domaines du Sénégal)**

### **7.1 Analyse du système de culture**

Lors de cette visite, nous nous sommes focalisé sur l'analyse du système de production sous serres et sur ses possibilités d'amélioration. La production de tomates (cerise, grappe et olivette) à la GDS est en effet réalisée de manière proche du hors sol, en appliquant des règles de prophylaxie strictes : culture sous tunnels insect-proof, passage par sas munis de pédiluve pour prévenir les introductions de parasites et ravageurs. Toutefois, il ne s'agit toutefois pas de hors sol : les plantes poussent dans des bacs isolés, mais remplis de sol sableux. Ce sol a été préalablement traité avec un nématicide (Vydate® ou Rugby®) avant plantation.

Un système strict de monitoring a été mis en place : des comptages de nématodes sont régulièrement effectués par un technicien de laboratoire qui fait partie de l'entreprise et travaille dans un laboratoire aménagé sur place.

Il est ainsi possible de vérifier que l'inoculum au début de culture est très réduit. Ensuite, les nématodes ne peuvent ainsi être introduits que par les eaux d'irrigation, et, de façon limitée par l'homme (via les outils contaminés, les particules de terre contaminées présentes sous les chaussures ou sur les vêtements).

Le système est assez performant, les rendements sont deux fois plus élevés qu'au Maroc. Cependant, selon, Khalid Berdji, les nématodes (essentiellement les *Meloidogyne*) restent encore le principal problème phytosanitaire et des traitements nématicides sont toujours indispensables.

### **7.2 Méthodes alternatives envisageables**

#### **7.2.1 Suppression de l'inoculum initial**

Cependant, il faut noter que les nématicides n'éliminent pas totalement les nématodes. En effet, les organo-phosphorés (comme le Rugby® / cadusafos) et les carbamates (comme le Vydate®/oxamyl) agissent en bloquant l'acétylcholinestérase qui est bloquée sous une forme inactive ; l'acétylcholine s'accumule ainsi au niveau de la synapse, empêchant la transmission de l'influx nerveux. Chez les insectes ou les vertébrés, cette inhibition peut entraîner la mort par blocage des systèmes cardiaques ou respiratoires. Chez les nématodes, chez qui la respiration est passive et qui ne possèdent pas de système circulatoire sous contrôle nerveux, les anti-cholinestérasiques n'entraînent qu'une paralysie

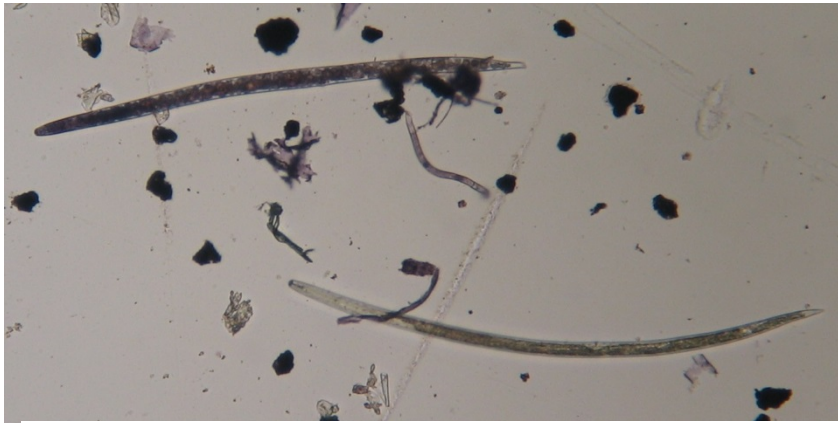


Figure 6 : résultat d'une étude sur la survie des nématodes après trempage dans une solution d'oxamyl à 120 g/L : en haut, une *Radopholus similis* femelle morte car colorée au bleu de Meldola ; en bas, une vivante non colorée.

plus ou moins longue qui n'est pas toujours mortelle (Figure 6). Ces produits sont ainsi plus des nématostatiques que des nématicides.

Pour assurer une destruction totale des nématodes, d'autres techniques peuvent être mises en œuvre ; dans le cas des serres de la GDS, la désinfection par la vapeur

est tout à fait possible avec des générateurs de vapeur type GardenVap®. Cette méthode, que nous utilisons avec succès pour nos stériliser les sols dans le cadre de nos recherche en laboratoire, est cependant très coûteuse et forte consommatrice de fuel.

Mais surtout, elle conduit à la destruction non seulement de la microfaune mais aussi de la microflore. Il faudra donc d'une part veiller à apporter mycorhizes à la plantation des plantules de tomates. Mais surtout, un tel milieu étant vide, un pathogène quel qu'il soit n'y rencontrera pas d'antagoniste et risque de s'y développer très rapidement.

Pour détruire les populations de *Meloidogyne*, on peut aussi utiliser une rotation assainissante à base de *Tagetes* ou de crotalaires (Hooks et al., 2010 ; Wang et al., 2002). Plusieurs études ont montré que les *Crotalaria* pouvaient mieux détruire les populations de *Meloidogyne* du sol que le nématicides (Wang et al., 2002). De même, les *Tagetes* peuvent aussi détruire certaines populations de *Meloidogyne*. Cependant, certains cultivars peuvent s'avérer hôtes de *Meloidogyne incognita* (Ploeg et Maris, 1999) et toutes les souches de *Meloidogyne* ne réagissent pas de la même façon (Piedra Buena et al., 2008); il reste donc indispensable de tester au préalable le statut d'hôte des plantes potentiellement nématicides et de vérifier leur capacité nématicide.

Les modes d'action de ces plantes assainissantes sont multiples : plantes non hôtes, plantes pièges, allélopathie mais aussi effets indirectes via les organismes antagonistes du sol. Ceux-ci sont particulièrement importants pour les crotalaires qui, en favorisant le développement de la microflore, favorise aussi le développement des nématodes bactériophages, et ainsi, les populations de prédateurs de nématodes. Dans un milieu biologiquement appauvri, l'effet des plantes assainissantes pourrait ainsi s'avérer inférieur à ce qu'il sera en plein champ à la SCL ou à la SOCAS... A moins que l'on apporte dans le milieu des organismes « auxiliaires ».

Il existe en effet des préparations d'antagonistes de *Meloidogyne*, comme le BioAct® par exemple (voir page 10). Si ces préparations biologiques ont souvent déçues aux champs, les bacs de culture de la GDS sont assez proches des conditions de laboratoire dans lesquels ces produits ont donné d'excellents résultats. L'utilisation de ces produits n'est de surcroît pas incompatible avec la mise en œuvre de rotations avec des *Crotalaria* ou *Tagetes*.

### 7.2.2 Prévention de la dissémination

Dans ce milieu déjà bien contrôlé, les bacs paraissent suffisamment isolés les uns des autres pour prévenir les contaminations actives (passage des nématodes d'un bac à l'autre en rampant) et par les eaux qui ruissellent en surface. Il faudra juste bien surveiller les chemins d'eau et vérifier que les fonds ne sont pas trop percés.

Pour prévenir la contamination par les eaux d'irrigation, il faut veiller à ce que l'eau soit pompée en surface du fleuve ou des bassins de stockage (les nématodes, étant plus denses que l'eau, tombent au fond). Un système de décantation supplémentaire permet d'amenuiser le risque d'introduction des œufs. Les filtres à sables classiquement utilisés ne permettent pas de retenir les J2 de *Meloidogyne*, leur diamètre étant de l'ordre de 10 µm pour environ 400 µm de long. Pour retenir les œufs et les J2, il faudrait filtrer à 10 microns ce qui est difficile à mettre en œuvre.

Pour mieux prévenir la dissémination par les travailleurs à leur insu, on peut modifier l'organisation du travail. Chaque travailleur (ou petit groupe de travailleur) se verrait affecter un secteur sur lequel il serait chargé de l'essentiel des opérations culturales. La transmission par les outils ou vêtement souillés serait ainsi limité au secteur de l'agent.

### 7.2.3 Plan d'action

Pour limiter, voire supprimer le recours au nématicides dans les serres de la GDS, le plan d'action suivant peut être mis en œuvre :

- a. Faisabilité économique de la désinfection par la vapeur (pour limiter à court terme l'usage des pesticides)
- b. Etude de l'efficacité de plantes assainissantes : le système de culture particulier de la GDS font que, même si les essais de rotation à réaliser à la SCL et à la SOCAS seront utiles pour orienter le choix des variétés à tester, les plantes les plus utiles ne seront pas nécessairement les mêmes. Il faudra donc réaliser des essais en pot ; on plantera les différentes variétés de plantes assainissantes à tester (3 séries de 10 répétitions) dans des pots (1 plant par pot) que l'on inoculera 3 semaines après leur levée avec 500 à 1000 J2 de *Meloidogyne* / pots issus de l'une des serres (pour avoir suffisamment de J2, il faudra sans doute multiplier la souche sur des plants de tomate cultivés à part). Une première série sera sacrifiée à 45 jours après inoculation, la seconde à 60 jours et la dernière à 90 jours. On notera les dégâts éventuels en utilisant l'échelle des indices de Zeck (1971), puis on dénombrera ensuite les *Meloidogyne* dans les racines d'une part, le sol d'autre part.
- c. Essai de préparation d'antagoniste vivants : un essai avec le BioAct® pourrait être envisagé comme suit. On comparera 4 traitements, insecticide (Vydate à la dose / m<sup>2</sup> habituelle), BioAct® à 2,5 et 5.10<sup>8</sup> spores / pots (soit, pour une préparation à 10<sup>10</sup> spores/g, 25 et 50 mg par pots) et témoin non traité. Dans 40 pots (10 répétitions x 4 traitements) d'un litres contenant le milieu de culture habituel, on inocule 500 à 1000 J2 de *Meloidogyne*. Au bout d'une semaine, on y repique un plant de tomate. Au bout de 70 à 75 jours, on sacrifiera les plants de tomate pour compter les populations de nématodes dans les racines et dans le sol. On notera également les dégâts visuels en utilisant l'échelle des indices de Zeck (1971).
- d. Mise en place des mesures de prévention de l'introduction des *Meloidogyne* : adaptation des systèmes d'irrigation, mise en place de la nouvelle organisation de travail.

N.B. : Pour compter les *Meloidogyne* dans le sol (Essais en « b » et « c »), il paraît préférable de les extraire par élutriation. Ce que le laboratoire actuel ne peut faire (voir partie 7 page 25).

### 7.3 Conclusion

Pour supprimer le recours aux nématicides, nous suggérons un changement de paradigme : passer d'un milieu aussi stérile que possible à un milieu isolé mais comportant des organismes « choisis » pour améliorer la résilience du système et en particulier sa résistance aux nématodes.

Par ailleurs, la GDS dispose d'un laboratoire et d'un technicien nématologiste. Si ce technicien nous a paru convenablement formé pour faire du monitoring et réaliser des analyses nématologiques pour les essais préconisés, le laboratoire a besoin d'être amélioré. Nous y reviendrons au chapitre 7 du présent rapport.

## 8. Cas de la CSS (Compagnie Sucrière Sénégalaise)

La Compagnie Sucrière Sénégalaise (CSS) exploite environ 10 000 ha de terre, dont 9 000 sont exploités en canne à sucre. Pendant longtemps, l'essentiel des terres exploitées étaient des terres alluviales argileuses proches du fleuve. Cependant, les extensions récentes se font sur des terrains sableux sur lesquels les nématodes posent un problème ; pour l'instant, la solution apportée consiste en application systématique de nématicides (Furadan<sup>®</sup>, Rugby<sup>®</sup>, Vydate<sup>®</sup>...) avec tous les problèmes que cela peut poser.

### 8.1 Situation de la canne à sucre

Les visites aux champs ont permis d'observer des dégâts attribuables aux *Pratylenchus* (brunissements, nécroses racinaires) malgré les applications de nématicides. Ces nécroses peuvent être associées à un retard de croissances et à un jaunissement des feuilles. D'après les données bibliographiques (Cadet et Spaull, 2005) les *Pratylenchus* peuvent réduire le nombre de tiges par bouture, la longueur des cannes, leur poids et leurs taux de sucre ; Sundararaj et Mehta (1994) ont ainsi mesuré des pertes de rendement sucrier causés par *P. zae* qui montent jusqu'à 30 %.

Nous n'avons pas observé de dégâts de *Meloidogyne*. Sur canne à sucre, les galles sont généralement « discrètes » (Cadet et Spaull, 2005) et difficiles à observer. Dans des expériences en pot, des réductions de croissance ont cependant été observées ; les pertes potentielles pourraient atteindre 6 à 9 % (Cadet et Spaull, 2005).

La CSS dispose d'un laboratoire pour réaliser des analyses nématologiques. Le technicien, qui en a la charge extrait les nématodes par Baermann après mise en suspension des échantillons de sol et tamisage à 40 µm. Outre de nombreux *Pratylenchus*, MM Ndong et Sarr observent aussi fréquemment des *Hoplolaimus*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, plus rarement des *Xiphinema* et *Longidorus*. Les populations totales sur sol cultivés peuvent atteindre 500 nématodes / 250 cm<sup>3</sup> de sol nu et 1250 nématodes / 250 cm<sup>3</sup> de sol cultivé. Or selon Cadet et Spaull (2005), les dégâts sont significatifs au-delà de 100 *Pratylenchus* pour 200 g de sol avant plantation.

La mise en place de méthode de lutte contre les nématodes sur les terres sableuses est ainsi justifiée. Cependant, l'utilisation intensive d'organophosphorés et de carbamates à niveau de toxicité élevés

(tous ceux qui sont actuellement utilisés à la CSS sont classés très toxiques<sup>3</sup>) pose des problèmes de sécurité pour l'homme, de gestion des communautés d'êtres vivants dans le sol, de pollution du milieu, trop importants pour négliger la mise en place de méthodes alternatives.

Par ailleurs, le cumul annuel des précipitations dans la région de Richard Toll est de l'ordre de 300 mm par an. La canne est dans ces conditions irriguée par l'eau du fleuve Sénégal. La visite des stations de pompage et de stockage intermédiaires a permis de constater que les crépines sont placées de façon à pomper l'eau par le fond des canaux et bassins. Il est ainsi possible que des parcelles soient contaminées par les eaux d'irrigation.

Les nématicides sont en grande partie appliqués en utilisant le système d'irrigation et parviennent aux plants via les goutteurs. La disposition des tuyaux déterminera ainsi les dispositifs expérimentaux appliqués.

## 8.2 Méthodes alternatives envisageable

- La lutte génétique est possible, en cherchant en particulier des variétés plus tolérantes aux *Pratylenchus* et aux *Meloidogyne*. De telles variétés existent (N12, N14 et NCo376 par exemple). Néanmoins, plusieurs espèces de nématodes attaquant la canne à sucre, cette méthode ne suffira pas seule à résoudre le problème.
- Une jachère, même courte, permet normalement de réduire les populations de nématodes phytoparasites, particulièrement celles d'endoparasites.
- Mais pour optimiser l'espace, la rotation, même courte, avec des plantes assainissantes est préférable. Les Crotalaires sont généralement considérées comme peu efficaces contre les *Pratylenchus* (Wang et al., 2002) ; elles le sont cependant contre les ectoparasites de la canne *Helicotylenchus*, *Criconemella Paratrachodoros* ou *Trichodoros* (Rosa et al., 2004). De plus, après coupe et incorporation dans le sol, les crotalaires émettent des substances nématotoxiques (pyrrolizidine et monocrotaline).
- La solarisation améliore fortement cet effet « biofumigant » (Rich J.R. et Rahi, 1995). Les conditions climatiques en avril-mai se prêtent bien à la mise en œuvre de cette technique. L'intérêt d'une période soit de sol nu soit de sol recouvert d'une bâche sombre biodégradable après destruction puis incorporation de la crotalaire mérite d'être évalué.
- D'autres plantes de services peuvent être utilisées : Tagetes, Mucuna pruriens, moutarde.
- Ces plantes de services, et spécialement les légumineuses, peuvent également favoriser le développement d'organismes « auxiliaires » dans le sol (prédateurs et parasites de nématodes, autres antagonistes).
- Outre le développement de la microfaune et de la microflore « utile », certains organismes (mycorhizes en particulier) peuvent être développés.
- Enfin, des carences peuvent ralentir la croissance de la plante et limiter ses capacités de défense et de régénération. De même un sol trop tassé, en limitant la croissance des racines, augmentera la sévérité des dégâts en limitant la capacité de la plante à émettre des racines de remplacement.

---

<sup>3</sup> Dans la logique actuelle, presque tous les nématicides organophosphorés et carbamates sont classés T+ « très toxiques ». Seul le fosthiazate (vendu en Europe sous les noms de Nemathorin® ou de Nemazate®) est « seulement » Xn (nocif). Ce produit est le dernier nématicide utilisable contre les pratylenchidés sur bananiers.

### 8.3 Plan d'action

La visite des stations de pompage et de stockage intermédiaires a permis de constater que les crépines sont placées de façon à pomper l'eau par le fond des canaux et bassins. Or, les nématodes, plus denses que l'eau, ont tendance à tomber au fond. Les pressions atteintes (de l'ordre de 5 bars) peuvent être supportées par des nématodes. Il faut donc que dans la chaîne de pompage, on s'efforce d'installer un maximum de crépines flottantes pour prévenir la dissémination des nématodes via les eaux d'irrigation.

Pour diminuer l'utilisation des nématicides, un suivi nématologique des parcelles est nécessaire. La méthode actuellement utilisée au laboratoire permet de mesurer les populations de nématodes dans le sol. Cependant, pour suivre les populations de nématodes, et particulièrement de *Pratylenchus* dans les racines, d'autres méthodes seront probablement plus adaptées (aspersion, centrifugation-flottaison...). Après évaluation et choix de la technique d'extraction, puis acquisition des jeux de données donnant des matrices de décision, il sera possible de déclencher les traitements nématicides sur avertissement. Ce qui devrait réduire le coût de production et la pression polluante sans toutefois l'éliminer.

Pour établir ces matrices, il faut aussi mieux connaître la pathogénie des principales composantes de la nématofaune associée à la canne à sucre. Un premier protocole d'évaluation a été discuté avec Messieurs Ahondokpe et Ntab pour évaluer le gain en rendement fournis par les nématicides.

L'intérêt d'une première série de plantes de rotation à effet nématicide est à évaluer. Dans un premier temps, un inventaire des espèces utilisables est à réaliser. L'idéal serait de commencer par des variétés locales de crotalaires. Puis par des variétés introduites après évaluation du risque invasif. L'effet de ces plantes de service devra être évalué contre les principales espèces présentes (*Pratylenchus*, surtout *P. zae* et *P. brachyurus*, *Meloidogyne*, *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*...), avec et sans période de jachère post enfouissement (« biofumigation »).

Solarisation : l'effet éventuel de la biofumigation peut être amélioré par la pose d'un film plastique (nous combinerions alors biofumigation et solarisation). Dans un 3<sup>e</sup> temps, des essais pourraient être conduits avec des films, de préférence biodégradables.

Enfin, une veille concernant les agents biologiques « auxiliaires » est à mener ; des tests de biopesticides peuvent compléter ces travaux.

### 8.4 Conclusion

Pour limiter voire, à terme, supprimer l'utilisation des nématicides, plusieurs techniques peuvent être mises en œuvre. Prises isolément, elles seront probablement insuffisantes. Mais ensemble, dans le cadre d'un système adapté les combinant judicieusement, il est possible que nous puissions réussir le même pari que celui qu'ont remporté les planteurs de banane antillais. Ceux-ci réalisaient 2 à 3 applications de nématicides par an, consommant ainsi plus de 943 tonnes de nématicides en 1996 contre 29 tonnes en 2012 et ce, sans diminuer leurs rendements. Mais pour cela, des recherches doivent être menées avec des moyens analytiques adaptés.



## 9. Des laboratoires à organiser et à fédérer

Pour mettre en œuvre des méthodes alternatives à l'utilisation des pesticides, la connaissance de l'ennemi à combattre est indispensable. Il faut aussi disposer d'indicateurs de sa population pour évaluer et mettre en œuvre les mesures alternatives. Dans le cas des nématodes, il faut ainsi disposer de laboratoires capables d'extraire du sol ou des racines les nématodes, puis de les identifier et les dénombrer.

Au cours de cette mission, nous avons pu visiter trois infrastructures dédiées.

- 1- A la GDS : un laboratoire a été aménagé dans une structure type container. Un technicien y réalise des extractions par « la méthode des seaux », en pratique un dérivé du dispositif Baermann (Hooks et al. 2005). En pratique, le début de l'extraction se passe dans la cour, la mise en Baermann proprement dite dans le container. Les conditions actuelles, en particulier l'absence d'adduction d'eau et de paillasse humide adaptée dans le laboratoire ne permettent guère de mettre en œuvre une autre méthode ou d'adapter la méthode existante. Par contre, pour les comptages et dénombrements, le technicien, M. Alioune Diop, dispose d'un microscope à fond inversé parfaitement adapté (Figure 7).
- 2- A la CSS : les activités d'extraction et de dénombrement de nématodes sont intégrées à un laboratoire plus large réalisant d'autres types d'analyses. Les possibilités d'installations d'aménagement sont bien plus importantes. Il devient possible d'y intégrer des éluutriateurs ou des centrifugeuses par exemple. Néanmoins, l'espace dédié est un peu juste, l'équipement de microscopie suffisant pour des comptages en routine mais pas pour des déterminations.
- 3- A la SCL, une salle est en cours d'aménagement. Les lieux peuvent accueillir sans problèmes des aménagements nouveaux. Un stéréomicroscope vient d'être acquis. Il est parfaitement fonctionnel pour des analyses de routine, un peu juste pour des déterminations fines (Figure 8).



Figure 7 : Laboratoire de nématologie à la GDS



Figure 8 : salle de laboratoire de la SCL

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, adaptées d'une part à la question que l'on se pose (cherche-t-on à évaluer une population à un instant donné ou un potentiel inoculum ?), au milieu considéré (certaines méthodes, comme l'éluatriation, sont adaptées à l'extraction des nématodes libres dans les sols, d'autres comme la Chambre à brouillard de Seinhorst sont bien adaptées à l'extraction des nématodes endoracinaires), et enfin aux caractéristiques de l'espèce considérée. Selon les caractéristiques biologiques de l'espèce recherchée, certaines méthodes seront plus performantes que d'autres. Par exemple, l'éluatriation est une technique performante pour

l'extraction des formes libres de *Meloidogyne* dans le sol, beaucoup moins pour celle de *Radopholus similis* qu'il vaut mieux extraire par centrifugation-flottaison (Chabrier, 2013 ; Chabrier et al., 2008).

Lors de cette mission, les laboratoires de la GDS et de la CSS, les techniciens extrayaient les nématodes en utilisant une méthode dérivée des dispositifs Baermann. Bien adaptée à l'évaluation des populations de J2 de *Meloidogyne* dans le sol avant repiquage de plants maraîchers ou de boutures de canne à sucre, elle l'est bien moins pour l'évaluation des populations d'endoparasites dans les racines des mêmes canne à sucre pour évaluer la nécessité d'appliquer un nématicide en végétation. Pour développer les méthodes alternatives et répondre aux besoins analytiques qu'elles impliquent, d'autres techniques et d'autres moyens doivent être mis en œuvre.

Par ailleurs, les techniciens de la GDS et de la CSS m'ont paru correctement formés et semblent faire preuve de compétence et d'un grand intérêt pour leur métier. Ils sont bien à même de réaliser correctement des extractions et des déterminations en routine. Cependant, pour adapter, évaluer et développer de nouvelles méthodes d'extraction, pour déterminer des nématodes autres que ceux classiquement rencontrés sur les cultures de leur structure, pour appuyer efficacement les structures d'agronomie, un cadre niveau ingénieur voire docteur paraît nécessaire. La présence d'un ingénieur spécialiste en nématologie à plein temps dans chaque structure ne se justifie cependant pas ; il paraît donc judicieux de mettre en commun cette compétence, soit en facilitant l'installation d'un tel ingénieur qui exercerait auprès des 5 structures « clientes » à tour de rôle, soit en créant une structure qui chapeauterait les différents laboratoires. Ce cadre permettrait ainsi non seulement d'aider à la mise en œuvre du plan d'action, mais aussi, en assurant la formation continue des techniciens des différentes structures, les rendrait plus efficaces et permettrait à chacun de progresser.

## Références bibliographiques

Anastasiadis I.A., Giannakoub I.O., Prophetou-Athanasiadou D.A., Gowen S.R., 2008. The combined effect of the application of a biocontrol agent, *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes. *Crop Protection*, 27, 352–361

Aung T., Prot J.-C., 1990. Effects of crop rotations on *Pratylenchus zeae* and on yield of rice cultivar UPL Ri-5. *Revue Nématol.*, 13, 445-447.

Baldwin, J.G., Perry, R.N., 2004. Nematode Morphology, Sensory Structure and Function. In Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W., *Nematology – Advances and Perspectives*. Tsinghua University Press and CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 175-257.

Baujard P., 1996. Nematode survival and dispersal in arid and semi-arid regions of West Africa. *Nematropica*, 26, 194.

Baujard P., Bour E., Martiny B., 1995. Incidence des nématodes phytoparasites sur la culture du sorgho dans la zone Sahélienne du Sénégal, Afrique de l'Ouest. *Afro-Asian Journal of Nematology*, 5, 1-10.

Baujard, P., Martiny, B., 1994. Transport of nematodes by wind in the peanut cropping area of Senegal, West Africa. *Fundamental and Applied Nematology*, 17, 543-550.

Cadet P., Sanogo D., 2007. Rôle potentiel des haies vives pour la gestion des nématodes sur les bassins versants de la zone soudano-sahélienne au Sénégal. *Tropicultura*, 25 (3), 153-160

Baujard P., Martiny B., 1995. Ecology and pathogenicity of the Hoplolaimidae (Nemata) from the sahelian zone of West Africa. 2. Laboratory studies on *Scutellonema cavenessi* Sher, 1964. *Fundamental and Applied Nematology*, 18, 335-345.

Berthou F., Ba-Diallo A., De Maeyer L., De Guiran G., 1989. Caractérisation chez les nématodes *Meloidogyne* Goeldi (Tylenchida) de types virulents vis-à-vis du gène Mi de la tomate dans deux zones maraîchères au Sénégal. *Agronomie*, 9, 877-884.

Cadet P., Pate E., N'Diaye-Faye N., 2003. Nematode community changes and survival rates under natural fallow in the sudano-sahelian area of Senegal. *Pedobiologia*, 47, 149–160.

Cadet P., Spaul V.W., 2005. Nematodes parasites of sugarcane In: Luc M., Sikora R.A., Bridge J., Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 461–491.

Cadet P., Planchon O., Esteves M., Lapetite J-M., 2002. Experimental study of the selective transport of nematodes by runoff water in the Sudano-Sahelian area. *Applied Soil Ecology*, 19, 223-236.

Chabrier C., 2008. Survie et dissémination du nématode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne dans les sols bruns-rouilles à halloysites (nitisols) : effets de l'état hydrique et des flux hydriques. Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, Pointe à Pitre, France, 190 pp.

Chabrier C., Carles C., Quénéhervé P., Cabidoche Y. M., 2008. Nematode dissemination by water leached in soil: Case study of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on nitisol under simulated rainfall. *Applied Soil Ecology*, 40(2), 299-308.

Chitwood D. J., 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 221-249.

Coolen W.A., d'Herde C.J., 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent State Agriculture Research Centre, 77 pp

De Waele D., Jourdan E.M., 1988. Plant parasitic nematodes on field crops in South Africa. I. Maize. *Revue de Nématologie*, 11, 65-74.

Demeure Y., Netscher C., 1973. Méthode d'estimation des populations de *Meloidogyne* dans le sol. *Cah. ORSTOM, Sér. Biol.*, 21, 85-90.

Diop M.T., 1998. Ecologie de l'infestation de *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885), Chitwood, 1949 (Nematoda) par l'actinomycète parasitoïde *Pasteuria penetrans* Sayre & Starr, 1985. Thèse de Docteur de 3ème Cycle, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 142 pp.

Diop M.T., Ndiaye S., Mounport D., Mateille T., 2000. Développement des populations de *Meloidogyne javanica* et de *Scutellonema cavenessi* dans les systèmes de culture maraîchère au Sénégal. *Nematology*, 2, 535-540.

Duponnois R., Ba A.M., Mateille T., 1998. Effects of some rhizosphere bacteria for the biocontrol of nematodes of the genus *Meloidogyne* with *Arthrobotrys oligospora*. *Fundam. appl. Nematol.*, 21, 157-163

Duponnois R., Tabula T. K., Cadet P., 1997. Étude des interactions entre trois espèces d'*Acacia* (*Faidherbia albida* Del., *A. seyal* Del., *A. holosericea* A Cunn. ex G. Don) et *Meloidogyne mayaguensis* au Sénégal. *Canadian Journal of Soil Science*, 77, 359-365.

Ferraz, L.C.C.B., Brown, D.J.F., 2002. An Introduction to Nematodes: Plant Nematology. A student's textbook. Pensoft (edit.), Sofia, Bulgarie, 221 pp.

Faulkner L.R., Bolander W.J., 1970. Agriculturally polluted irrigation water as a source of plant parasitic nematode infestation. *Journal of Nematology*, 2, 368-374.

Fortuner R., 1973. Description de *Pratylenchus sefaensis* n. sp. et de *Hoplolaimus clarissimus* n. sp. (Nematoda : Tylenchida). *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, 21, 25-34.

Greco N., 1993. Reviews: Epidemiology and Management of *Ditylenchus dipsaci* on Vegetable Crops in Southern Italy. *Nematropica*, 23 (2), 247-251.

Greco N., Brandonisio A., Elia F., 1985. Control of *Ditylenchus dipsaci*, *Heterodera carotae* and *Meloidogyne javanica* by solarization. *Nematologia mediterranea*, 13(2), 191-197.

Hooks C. R., Wang K. H., Ploeg A., McSorley R., 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied soil ecology*, 46 (3), 307-320.

Hooper D.J., Hallmann J., Subbotin S.A., 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes. In: Luc M., Sikora R.A., Bridge J., Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 53-86.

Huat C., 1999. Etude de la sensibilité de la patate douce (*Ipomoea batatas*) aux nématodes phytoparasites du genre *Meloidogyne* au Sénégal. IRD et ISRA, Dakar, Sénégal, 49 pp.

Kiewnick S., Sikora R.A., 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*, 38, 179–187.

Khan A., Williams K.L., Nevalainen H. K.M., 2006. Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. *BioControl*, 51, 643–658

Krueger R., Dover K.E., McSorley R., 2007. Marigold (*Tagetes* spp.) for nematode management. ENY-056 (NG045), IFAS, University of Florida, Gainesville, USA, 8 pp.

Lavelle P., Blouin M., Boyer J., Cadet P., Laffray D., Pham-Thi A. T., Reversat G., Settle X., Zuily Y., 2004. Plant parasite control and soil fauna diversity. *C. R. Acad. Sciences, biologies*, 327(7), 629-638.

Lazzeri L., Leoni O., Manici L.M., 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *Industrial Crops and Products*, 20, 59–65.

Lima E.A., Mattos J.K., Moita A.W., Carneiro R.G., Carneiro R., 2009. Host status of different crops for *Meloidogyne ethiopica* control. *Tropical Plant Pathology*, 34 (3), 152-157.

Luc M., Ncíscher C., 1974. Presence of the sugar-beet nematode at Dakar. FAO Plant Protection Bulletin, 22 (1), 24-25.

McDonald A., Nicol J., 2005. Nematodes Parasites of Cereals. In: Luc M., Sikora R.A., Bridge J., Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 131-191.

Morgan G.D., MacGuidwin A.E., Zhu J., Binning L.K., 2002. Population Dynamics and Distribution of Root Lesion Nematode (*Pratylenchus penetrans*) over a Three-Year Potato Crop Rotation. Agronomy Journal, 94, 1146-1155.

Netscher C., 1966. Enquete sur les nématodes parasites des cultures maraichères et fruitières au Sénégal. ORSTOM, Abidjan RCI, 49 pp.

Netscher C., 1970. Les nématodes parasites des cultures maraichères au Sénégal. Cah. ORSTOM, sér. Biol., 11, 209–229.

Netscher C., 1974. L'arachide et le contrôle biologique des nématodes *Meloidogyne* spp. Dans les cultures maraichères du Sénégal. C.D.H. Cambérène et ORSTOM - Dakar, Dakar, Sénégal, 10 pp.

Netscher C., 1981. Arbres résistants au *Meloidogyne* spp.: utilisation comme brise vent au Sénégal. Agronomie Tropicale, 36, 175–177.

Norton D.C., 1983. Maize nematode problems. Plant Disease, 253-256

Piedra Buena A., Díez-Rojo M. Á., López-Pérez J. A., Robertson L., Escuer M., Bello, A., 2008. Screening of *Tagetes patula* L. on different populations of *Meloidogyne*. Crop protection, 27 (1), 96-100.

Ploeg A. T., Maris P. C., 1999. Effect of temperature on suppression of *Meloidogyne incognita* by *Tagetes* cultivars. Journal of nematology, 31 (4S), 709-714.

Prot J. C., 1980. Migration of plant-parasitic nematodes toward plant roots. Revue de Nématologie, 3, 305-318.

Reversat G., Germany G., 1985. Recherches sur la pathogénie des nématodes associés au maïs fourrager au Sénégal. Revue de Nématologie, 8, 27-30.

Rich J.R., Rahi G.S., 1995. Suppression of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* on tomato with ground seed of castor, *Crotalaria*, hairy indigo and wheat. Nematropica, 25, 159-164.

Rodríguez-Kábana R., Pinochet J., Robertson D. G., Wells L., 1992. Crop Rotation Studies with Velvetbean (*Mucuna deeringiana*) for the Management of *Meloidogyne* spp.. J Nematol., 24(4S), 662–668

Rosa R.C.T., Moura R.M., Pedrosa E.M.R., 2004. Efeitos do uso de *Crotalaria juncea* e carbofuran em fitonematóides ectoparasitos de cana-de-açúcar. Fitopatologia Brasileira, 29, 447-449.

Scurrah M. I., Niere B., Bridge J., 2005. Nematode parasites of Solanum and sweet Potatoes. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 193-220

Seinhorst J.W., 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica*, 8, 117-128.

Sikora R. A., Fernandez E., 2005. Nematode parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 319-392.

Sundararaj P., Mehta U. K., 1994. Influence of the lesion nematode-*Pratylenchus zeae*-on yield and quality characters of two cultivars of sugarcane. *Nematologia Mediterranea*, 22, 65-67.

Szczygłowska M., Piekarska A., Konieczka P., Namieśnik J., 2011. Use of brassica plants in the phytoremediation and biofumigation processes. *International Journal of molecular sciences*, 12 (11), 7760-7771.

Taylor D.P., Netscher C., Germani G., 1978. *Adansonia digitata* (Baobab) a newly discovered host for *Meloidogyne* sp. And *Rotylenchulus reniformis*. Agricultural implications. *Plant Disease Reporter*, 62, 276-277.

Trivedi P. C., Barker K. R., 1986. Management of Nematodes by Cultural Practices. *Nematropica*, 16, 213-236.

Tzortzakakis E., Gowen S., 1996. Occurrence of a resistance breaking pathotype of *Meloidogyne javanica* on tomatoes in Crete, Greece. *Fundam. appl. Nematol.*, 19 (3), 283-288.

Viglierchio, D. R., Yamashita, T.T., 1983. On the Methodology of Nematode Extraction from Field Samples: Density Flotation Techniques. *Journal of Nematology*, 15, 444-449.

Villenave C., Duponnois R., 2002. Interactions between ectomycorrhizal fungi, plant-parasitic and free-living nematodes and their effects on seedlings of the hardwood *Azela Africana* Sm. *Pedobiologia*, 46, 176–187.

Villenave, C., Cadet, P., Planchon, O., Estève, M., Lapetite, J.M., 2003. Transport of free-living nematodes by runoff water in a Sudano-Sahelian area. *Applied Soil Ecology*, 23, 85–91.

Wallace, H.R., 1959. The movement of eelworms in water films. *Annals of applied Biology*, 47, 366-370.

Wang K.-H., McSorley R., Gallaher R. N., 2004. Effect of *Crotalaria juncea* Amendment on Squash Infected with *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology*, 36, 290–296.

Wang K. H., Sipes B. S., Schmitt D. P., 2002. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: A review. *Nematropica*, 32, 35-57.

Wharton, D.A., 2004. Survival strategies. In Gaugler, R., Bilgrami, A.L., *Nematode Behaviour*. CAB International Edit., Wallingford Oxon, U.K., 371-399.

Whitehead A.G., Hemming J.R., 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, 55, 25-38.

Zasada I. A., Ferris H., 2004. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 1017–1024.

Zasada I. A., Klassen W., Meyer S. L., Codallo M., Abdul-Baki, A. A., 2006. Velvetbean (*Mucuna pruriens*) extracts: impact on *Meloidogyne incognita* survival and on *Lycopersicon esculentum* and *Lactuca sativa* germination and growth. *Pest. Manag. Sci.*, 62: 1122–1127.

Zeck W.M., 1971. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. *Pflanzenschutz-Nachrichten*, 24,141-144.

## **Annexes :**

**Protocoles normalisés utilisés au Laboratoire de Nématologie Tropicale du CAEC,  
Martinique.**



## Extraction de nématodes par Elutriation

Désignation :	Rédaction	Vérification	Approbation
Nom :	Christiane Mauriol- Bastol	Patrick Quénéhervé	
Fonction :	Technicienne supérieure CQSE	Responsable laboratoire	Conseil de groupement du PRAM
Date :			
Signature			

**Modification à l'origine de cette version :**

Version initiale

**Document :**      ☒ **géré**                      ☐ **non géré**

## **I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Il s'agit d'une méthode d'extraction des nématodes du sol. Cette méthode est parfaitement adaptée quand un grand nombre d'analyses de sol sont nécessaires (cas des enquêtes diagnostic, recherche...)

Ce mode opératoire s'adresse aux chercheurs, techniciens, stagiaires, VCAT

## **II. PRINCIPE DE LA METHODE**

Tamissage et séparation par gravité. Cette méthode utilise la différence de taille et de poids spécifique des nématodes et des éléments du sol.

## **III. DOCUMENTS ASSOCIES**

- P-TE-01 /NEMA Réalisation des analyses
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

Carnet à souche type manifold

*Ces documents se trouvent au laboratoire de nématologie salle 108*

## **IV. ABREVIATIONS**

Cf. : confer

cm : centimètre

cm<sup>3</sup> : centimètre cube

h : heure

mL : millilitre

mL/mn : millilitre par minute

mm : millimètre

PVC : Polychlorure de vinyle

VCAT : volontaire civil à l'aide technique

µm : micromètre

## **V. MOYENS EMPLOYES**

### §a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par un (\*)

- 1 Bulleur

- 4 tamis à maille de 50  $\mu\text{m}$
- Cellule de comptage de 1 ou 5 mL
- Couvercle boîte de pétri (12 cm de diamètre)
- Cuvette en plastique 1 litre
- Des Erlenmeyers de 2 litres avec les embouts coniques correspondants
- Entonnoir en plastique
- Passoire à grosse maille (environ 2 mm)
- pipette
- Pissette à eau
- Plaque de comptage de 5 mL ou de 1 mL
- Quelques béchers de 250 cm<sup>3</sup>
- Quelques tamis artisanaux (PVC et toile moustiquaire)
- Quelques tubes de comptage gradués à 100 ,50 ,25 mL
- Seaux de 10 litres
- Tissu de cellulose ,2 feuillets (mouchoirs type Kleenex)
- Une batterie d'élutriateurs de Seinhorst avec les débitmètres eau correspondants (80 à 50 mL/mn)
- Une loupe binoculaire ou un microscope
- Une trompe à vide

*Ce matériel se trouve salle 109 et 108*

#### §b. Les réactifs

Néant

#### §c. Consignes de sécurité spécifiques

Il est important de faire attention lors de la manipulation des Erlenmeyers et de leur mise en place sur les élutriateurs, risque de casse et de blessures.

#### §d. Etalon et Calibrage

Le débitmètre doit afficher entre 80 et 50 mL/mn (régler à l'aide du bouton)

Le matériel optique est contrôlé chaque année par la société Leica, une étiquette est apposée sur ce matériel, attestant le contrôle.

#### §e. Processus opératoire

### **1-Enregistrement des échantillons**

Voir procédure P-TE-01 /NEMA

## 2-Technique

*(La mise en œuvre de cette technique nécessite un accompagnement)*

- Un volume de 250 cm<sup>3</sup> de terre est prélevé à partir de l'échantillon initial à l'aide d'un bécher ; il est ensuite mélangé et dispersé dans un litre d'eau au dessus du tamis à grosse maille afin de retenir graviers et grosses racines dans une petite cuvette en plastique. Le mélange en suspension est ensuite introduit dans l'erlenmeyer de 2 litres à l'aide d'un entonnoir. On complète à ras bord avec de l'eau du robinet.
- Après agitation, l'erlenmeyer et son embout conique sont placés au dessus de la colonne d'élutriation de Seinhorst, préalablement remplie d'eau, bouchée à sa base et parcourue par un courant d'eau ascendant (80 mL /mn). Les particules de sol sédimentent rapidement dans le bas de la colonne tandis que les nématodes et les débris organiques demeurent en suspension dans l'erlenmeyer et le sommet de la colonne d'élutriation.
- Au sommet de la colonne, le trop plein d'eau avec les nématodes et les débris organiques s'écoule dans un seau de 10 litres.
- Au bout de 20 mn le contenu de l'erlenmeyer est à son tour versé dans le seau de 10 litres et l'élutriation continue pour encore 10 mn à 50 mL /mn.
- Au bout de 10 mn, c'est le contenu de la colonne (au-dessus de la partie qui a sédimenté) qui est recueilli dans le seau de 10 litres.
- On laisse le contenu du seau sédimenter à son tour quelques minutes avant de verser l'ensemble de la suspension au-dessus d'une batterie de 4 tamis de 50 µm.
- Le refus de chaque tamis est récupéré dans un bécher de 250 mL avant d'être lui même délicatement renversé au dessus d'un tamis à grosse maille (PVC et toile moustiquaire) qui sert en fait de support à une double épaisseur de tissus de cellulose . Le tamis est ensuite posé au dessus d'un couvercle de boîte de Pétri que l'on complète avec de l'eau et laissé au repos afin de récupérer les nématodes vivants dans une solution propre et limpide.
- Au bout de 24 à 48 heures, on récupère l'eau contenue dans la boîte de Pétri, dans un tube gradué à 100, 50, 25 mL
- Laisser décanter 2 heures, puis aspirer à l'aide de la trompe à vide à la dilution désirée

## 3-comptage

- Faire buller le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever 5 mL ou 1 mL de cette suspension avec une pipette ; mettre dans une cellule de comptage de 5 mL ou 1 mL

Compter tous les nématodes présents dans la cellule de comptage à l'aide de la loupe binoculaire ou au microscope suivant les instructions : I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA.

- Noter les résultats sur un carnet à souche type manifold

#### §f. Expression des résultats

1. Les critères de validation :

Néant

2. les calculs :

Appliquer le facteur de dilution

3. la limite de détection :

Néant

4. l'incertitude des résultats :

Néant

5. les autocontrôles :

Néant

#### §g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons sont conservés environ 1 semaine pour contrôle le cas échéant. Puis ils sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

#### §h. Commentaires – Remarques

### Quelques étapes en images



Elutriateurs



Débitmètre



Préparation échantillon



Elutriation



Tamissage



Récupération



Mise sur tamis



Phase de repos 24 à 48 heures

**Extraction de nématodes d'un échantillon de racines par  
centrifugation-flottaison**

<b>Désignation :</b>	<b>Rédaction</b>	<i>Vérification</i>	<i>Approbation</i>
Nom :	C.Mauriol-Bastol	P.Quénéhervé	
Fonction :	Technicienne supérieure CQSE	Responsable laboratoire	Conseil de groupement du PRAM
Date :			
Signature			

**Modification à l'origine de cette version :**

Complément d'informations

**Document :**      ☒ **géré**                      ☐ **non géré**

## **I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Description des différentes étapes de la méthode d'extraction de nématodes par centrifugation- flottaison (modifiée par Coolen et d'Herbe 1972), dans le but de dénombrer les nématodes contenus dans un échantillon de racine.

Ce mode opératoire s'adresse aux chercheurs, ingénieurs, techniciens, VCAT et stagiaires.

## **II. PRINCIPE DE LA METHODE**

Cette méthode a pour principe l'utilisation de la densité des nématodes par rapport à l'eau et à une solution de sulfate de magnésium.

## **III. DOCUMENTS ASSOCIES**

P-TE-01/NEMA Réalisation des analyses

P-TE-02/NEMA Habilitation du personnel

Enregistrements :

E-TE-02/NEMA Solution de sulfate de magnésium

E-TE-03/NEMA Fiche de comptage

E-TE-04/NEMA Bon de commande

E-GD-05 N°EXT 2007-01/NEMA Publication Coolen et d'Herbe 1972

Instructions :

I-M-01/NEMA Utilisation centrifugeuse JOUAN C412

I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8

I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A

I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan

I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB



## ABREVIATIONS

(MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O): *Sulfate de magnésium, 7 molécules d'eau*

μ : *micron*

μm : *micromètre*

cf. : *confer*

cm : *centimètre*

g : *gramme*

g/l : *gramme par litre*

mL : *millilitre*

mn : *minute*

réf : *référence*

CQSE : *correspondante qualité sécurité environnement*

VCAT : *volontaire civil à l'aide technique*

## V. MOYENS EMPLOYES

### a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par « \* »

Centrifugeuse avec godets de 250 mL

Mixer

- Vibro mélangeur
- \*Batterie de tamis : 250 μm, 80 μm, 50 μm, 32 μm et un tamis de 5 μm
- Balance
- Planche à découper
- Couteau
- Passoire
- Becher de 250mL, 100mL
- Tubes gradués à 25, 50,100 mL
- Microscopes
- Loupe binoculaire
- Cellule de comptage
- \*Densimètre

Tout ce matériel se trouve salle 108 et 109

*b. Les réactifs*

Le réactif critique est identifié par un « \* »

- Kaolin réf : 24926364 Labover (*argile concassé qui sert à contenir les débris végétaux et les nématodes pendant les centrifugations*)
- Solution de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ ) réf 25165361SP Labover, soit 450 g (plus ou moins 1 g) pour un litre d'eau du robinet (à défaut, on peut utiliser du sucre, soit 500 g/l plus ou moins 1 g), afin d'obtenir une densité comprise entre 1.15 et 1.20.

Ces réactifs sont stockés dans la salle de réserve produits chimiques.

*c. Consignes de sécurité spécifique*

Néant

*d. Etalon et Calibrage*

un contrôle mensuel de la solution de sulfate de magnésium est effectué à l'aide d'un densimètre (densité comprise entre 1.15 et 1.20), la densité obtenue est reportée sur la fiche E-TE-02/NEMA.

Si la densité de la solution est inférieure à 1.15 on la réajuste en ajoutant un peu de sulfate de magnésium jusqu'à obtenir la densité voulue. Noter la nouvelle valeur sur la fiche.

Le matériel optique est contrôlé chaque année par la société LEICA

Les balances sont contrôlées chaque année par la société BALCO

Une étiquette est apposée sur ces appareils pour attester du contrôle, les fiches de maintenance sont gérées par le responsable maintenance.

*e. Processus Opérateur*

**Enregistrement du prélèvement**

Les échantillons sont enregistrés suivant la procédure P-TE-01/NEMA.

**Préparation de l'échantillon**

- Laver les racines avec un jet puissant d'eau pour les débarrasser de la terre.
- Sur une planche, découper les racines en petits morceaux de 1 cm environ.
- Mettre les morceaux de racines dans une passoire, les laver à l'eau courante pour éliminer toute la terre.

- Bien homogénéiser le lot de racines.
- Prélever dans un petit Becher en plastique un aliquote d'environ 50 g de racines. Dans le cas où les échantillons ne peuvent être traités immédiatement, identifier l'échantillon. Conserver au frais.
- Remettre dans le sachet les racines non utilisées, garder environ deux semaines en cas de contrôle.
- Extraction par centrifugation – flottaison
- Mettre dans le bol du mixer les racines pesées, ajouter 200 mL d'eau du robinet.
- Mixer 2 fois 30 secondes avec un intervalle de 5 secondes entre les 2 broyages.
- Verser le broyat sur une colonne de tamis : de bas en haut 32  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 80  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , tamis préalablement mouillés. Bien rincer le bol du mixer au dessus du tamis 250  $\mu\text{m}$ .
- Tamiser pendant 2 mn avec un jet puissant sans éclabousser, le contenu du tamis 250  $\mu\text{m}$ .
- Jeter le contenu du tamis 250  $\mu\text{m}$ , puis laver, au dessus du tamis 50  $\mu\text{m}$  (jet très faible), le contenu du tamis 80  $\mu\text{m}$ , par-dessus et par-dessous, en l'inclinant un peu afin de faire descendre doucement le contenu vers le bas.
- Récupérer le contenu du tamis 80  $\mu\text{m}$  dans un godet de centrifugation 250 mL, dans lequel on aura mis au préalable 3 cuillères à café de KAOLIN.
- Faire de même pour les tamis 50  $\mu\text{m}$  et 32  $\mu\text{m}$ .
- Mettre en suspension à l'aide du Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément avec de l'eau distillée les godets 2 à 2 sur la balance.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn.
- Jeter le surnageant (eau).
- Ajouter 200 mL de sulfate de magnésium (*opérer rapidement car les nématodes supportent mal la pression osmotique du sulfate de magnésium*).
- Remettre le culot en suspension avec le Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément les godets 2 à 2 sur la balance avec du sulfate de magnésium.
- Centrifuger à 3000 tours / mn pendant 5 mn cf. I-M-01/NEMA

- Verser le surnageant sur un tamis de 5 µm préalablement mouillé.
- Laisser le tamis en place quelques minutes pour récupérer le sulfate de magnésium.
- Laver doucement (jet d'eau très faible) par-dessus et par-dessous, le tamis légèrement incliné.
- Récupérer le contenu du tamis (entonnoir) dans un tube gradué de 50 mL, à l'aide d'une pissette d'eau.

### Comptage

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes.
- Prélever environ 2 mL de cette suspension avec une pipette, monter en cellule de 1 mL.
- Compter au microscope ou à la loupe (cf. I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA) tous les nématodes présents dans le quadrillage (10x8=1mL) et reporter le résultat sur la fiche E-TE-03/NEMA.

### Expression des résultats

#### 1. Les critères de validation :

Habilitation de l'opérateur suivant la procédure P-TE-02/NEMA

#### 2. Les calculs :

Appliquer la formule suivante pour avoir le nombre de nématodes contenus dans 100 g de racines.

$$\frac{\text{Nb.re.de.nématodes} \times \text{volume}}{50\text{g.de.racines}} \times 100$$

#### 3. La limite de détection :

Le matériel optique est choisi d'après des critères stricts pour l'observation des nématodes.

#### 4. L'incertitude des résultats :

Néant.

#### 5. Les autocontrôles :

Néant

### f. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons (après 2 semaines environ) sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

g. Commentaires - Remarques

- Refuser tout échantillon qui ne serait pas identifié correctement et qui ne serait pas accompagné d'un bon de commande.



Réservoir  $\text{MgSO}_4$



Colonne de tamis

Quelques étapes en image



Broyage



Tamissage



Agitation



Tamis 5  $\mu$  (récupération)



Récupération en tube

**Extraction de nématodes par aspersion  
(Chambre à brouillard)**

<b>Désignation :</b>	<b>Rédaction</b>	<i>Vérification</i>	<i>Approbation</i>
Nom :	Christiane Mauriol- Bastol	Patrick Quénéhervé	
Fonction :	Technicienne supérieure CQSE	Responsable laboratoire	Conseil de groupement du PRAM
Date :			
Signature			

**Modification à l'origine de cette version :**

Version initiale

**Document :**      ☒ **géré**                      ☐ **non géré**

## **I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Cette méthode permet d'extraire les nématodes des tissus végétaux.

Avec cette méthode, les nématodes sont parfaitement préservés et vivants donc plus facile à identifier et peuvent être utilisés pour d'autres usages : fixation, ré infestation. Cette technique demande du temps, les résultats finaux ne sont pas obtenus avant 15 jours.

Ce mode opératoire est destiné aux chercheurs, techniciens, stagiaires, VCAT

## **II. PRINCIPE DE LA METHODE**

Par l'action d'un brouillard d'eau sur un échantillon à analyser, les nématodes présents vont sortir d'eux-mêmes de cet échantillon, et seront ainsi récupérés.

## **III. DOCUMENTS ASSOCIES**

- P-TE-01 / NEMA Réalisation des analyses
- I-M-02/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild MZ8
- I-M-03/NEMA Utilisation loupe binoculaire Wild M5A
- I-M-04/NEMA Utilisation microscope Leitz Diaplan
- I-M-05/NEMA Utilisation microscope LEICA DMLB

Carnet à souche type manifold

*Ces documents se trouvent au laboratoire de nématologie salle 108*

## **IV. ABREVIATIONS**

°C : degré Celsius

µm : micromètre

cf. : confer

cm : centimètre

cm<sup>3</sup> : centimètre cube

g : gramme

mL : millilitre

mL/mn : millilitre par minute

mm : millimètre

PVC : polychlorure de vinyle

R1 : première date de récupération (7 jours)

R2 : deuxième date de récupération (14 jours)

VCAT : volontaire civil à l'aide technique

## V. MOYENS EMPLOYES

### §a. Le matériel

Le matériel critique est identifié par (\*)

- balance
- Boîtes de pétri (12 cm de diamètre)
- Bulleur
- Cellule de comptage de 5 mL
- Chambre à brouillard
- Couteaux, planche à découper
- Etuve
- Filtres de cellulose (Kleenex)
- Microscope ou loupe binoculaire
- Passoire à grosse maille
- Pipette
- Pissette à eau
- Quelques béchers de 250 cm<sup>3</sup>
- Quelques bouts de tuyaux plastiques 10 cm de longueur environ
- Quelques entonnoirs en plastique
- Quelques flacons en plastiques de 500 mL
- Quelques tamis artisanaux à grosse maille (PVC et toile moustiquaire, à fabriquer selon modèle)
- Quelques tubes de comptage gradués (25, 50, 100 mL)
- Trompe à vide

*Ce matériel se trouve en salle 108, 109 et salle de stockage au sous sol*

### §b. Les réactifs

Néant

### §c. Consignes de sécurité spécifiques

Néant

### §d. Etalon et Calibrage

Néant

### §e. Processus opératoire

#### **1-Enregistrement des échantillons**

Voir procédure P-TE-01 /NEMA

#### **2-Technique**

*(La mise en œuvre de cette technique nécessite un accompagnement)*



- Placer les racines dans la passoire et les laver à l'eau (jet puissant) pour les débarrasser de la terre adhérente. Découper les racines en petits morceaux d'environ 1 cm de longueur sur la planche à découper. Laver les morceaux de racines dans la passoire à l'eau courante en prenant la précaution de ne pas perdre les petites racines et bien homogénéiser l'ensemble. Sur un tamis à toile de moustiquaire, peser un poids convenu de racines (de 20 à 40g en fonction de la taille des racines)
- Placer ce tamis sur un entonnoir équipé à son extrémité d'un tuyau d'une dizaine de cm. Placer l'ensemble du dispositif sur le flacon de 500 mL équipé d'un trop plein de surface sur le support adapté dans la chambre à brouillard (1 minute de brouillard, 2 minutes de ressuyage).
- Au bout de 7 jours, on récupère le flacon contenant la suspension R1 avec son numéro d'échantillon que l'on remplace par un second flacon (un premier comptage sera effectué sur cette suspension R1).
- Après 2 heures de sédimentation, on pompe délicatement le trop-plein des flacons à l'aide d'une trompe à vide et la suspension de nématodes (inférieure en volume à 100 mL) est transférée directement dans un tube de comptage.
- Au bout de 14 jours, on récupère le flacon contenant la suspension R2 avec son numéro d'échantillon et l'on procède comme décrit ci-dessus.
- En fonction de la limpidité des suspensions de nématodes en R1 et R2, une filtration sur filtre de cellulose sera ou non envisagée. Pour ce faire, le contenu du tube sera délicatement renversé au dessus d'un tamis à grosse maille (PVC et toile moustiquaire) qui sert en fait de support à une double épaisseur de tissus de cellulose. Le tamis est ensuite posé au dessus d'un couvercle de boîte de Pétri et laissé au repos afin de récupérer les nématodes vivants dans une solution propre et limpide.
- Au bout de 24 heures, on récupère la solution dans un tube gradué à (100, 50, 25 mL) avant de procéder au comptage sur un aliquote de la solution à la dilution désirée.

### **3- Comptage**

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever 5 mL de cette suspension avec une pipette ; Mettre dans une cellule de comptage de 5 mL
- Compter tous les nématodes présents dans la cellule soit au microscope ou à la loupe : cf. I-M-02/NEMA, I-M-03/NEMA, I-M-04/NEMA, I-M-05/NEMA .

#### §f. Expression des résultats

1. Les critères de validation :

Néant

2. les calculs :

Appliquer le facteur de dilution 20,10 ou 5

Les résultats des comptages après 7 et 14 jours sont rassemblés Les racines sont alors séchées à l'air ambiant, puis 24 heures dans une étuve à 50 °C avant d'être délicatement pesées. On note le poids des racines sèches, on peut ainsi après calcul rapporter le nombre de nématode par gramme de racines fraîches ou sèches.

3. la limite de détection :

Néant

4. l'incertitude des résultats :

Néant

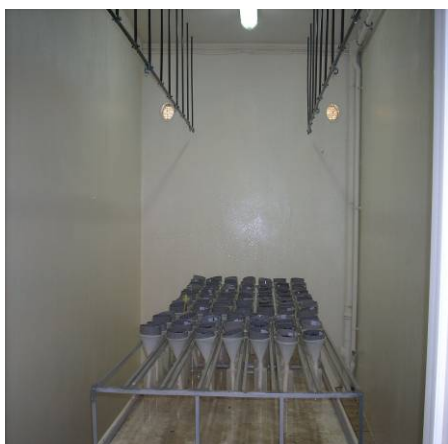
5. les autocontrôles :

Néant

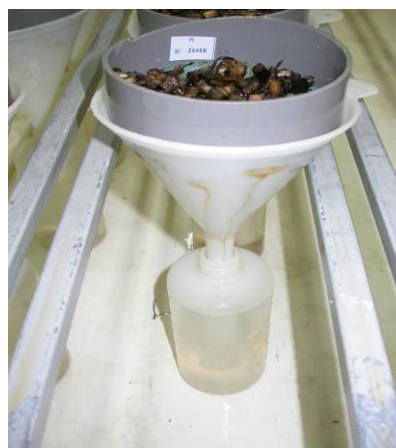
#### §g. Conditions de conservation et d'élimination des échantillons

Les échantillons sont conservés environ 1 semaine pour contrôle le cas échéant. Puis ils sont éliminés par le circuit normal des déchets ménagers.

#### §h. Commentaires - Remarques



***Chambre à brouillard***



***Echantillon***